

**DIE ZELLULÄRE IMMUNITÄT BEI DER
IMMUNTHROMBOZYTOPENIE
IM VERGLEICH ZU NORMALPERSONEN
EINE LYMPHOZYTENKINETISCHE UNTERSUCHUNG**

NIMROD SCHWELLA

1987

Disbui. München



Aus der Medizinischen Klinik III der Universität München
Vorstand: Professor Dr. W. Wilmanns

DIE ZELLULÄRE IMMUNITÄT BEI DER IMMUNTHROMBOZYTOPENIE IM
VERGLEICH ZU NORMALPERSONEN - EINE LYMPHOZYTENKINETISCHE
UNTERSUCHUNG

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Nimrod Schwella
aus
Neumarkt/Siebenbürgen

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:

Professor Dr. R. Eckstein

Mitberichterstatter:

Professor Dr. W. Wilmanns

Prof. Dr. Dr. h. c. W. Brendel

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dekan:

Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung:

12 November 1987

I. EINLEITUNG

II. ALLGEMEINE BEMERKUNGEN

III. DIE ANNAHMEN DER ALTE AKADEMIE FÜR DIE

UNTERSUCHUNG DER

1. Die Annahme der

2. Die Annahme der

Meinen Eltern

Piroschka und Julius

sowie

Inge und Willy Bechem

gewidmet

IV. DIE ANNAHMEN DER NEUEN AKADEMIE

V. DIE ANNAHMEN DER AKADEMIE

VI. ALLGEMEINE BEMERKUNGEN

1. Die Annahme der

2. Die Annahme der

3. Die Annahme der

1. Die Annahme der

2. Die Annahme der

3. Die Annahme der

4. Die Annahme der

5. Die Annahme der

6. Die Annahme der

1. Die Annahme der

INHALTSVERZEICHNIS

SEITE

<u>1. EINLEITUNG</u>	1
<u>1.1. ALLGEMEINES</u>	1
<u>1.2. DER LYMPHOZYT UND SEINE BEDEUTUNG FÜR DIE KÖRPEREIGENE ABWEHR</u>	2
1.2.1. B-Lymphozyten	5
1.2.2. T-Lymphozyten	6
1.2.2.1. T-Helferzellen	9
1.2.2.2. Zytotoxische T-Zellen	10
1.2.2.3. T-Suppressorzellen	11
1.2.3. Nullzellen	12
<u>1.3. DER ABLAUF VON IMMUNREAKTIONEN</u>	13
<u>1.4. ZIELE DER UNTERSUCHUNG</u>	15
<u>2. MATERIAL UND METHODEN</u>	18
<u>2.1. PROBANDEN</u>	18
2.1.1. Immunthrombozytopenie	18
2.1.2. Kontrollen	21
<u>2.2. UNTERSUCHUNGEN</u>	21
2.2.1. Mitogen- und Antigenstimulation	22
2.2.1.1. Mitogene	22
2.2.1.2. Antigene	23
2.2.2. Suppressorzellassay	27
2.2.3. Bestimmung der T-Zellsubfraktionen	28
<u>2.3. STATISTISCHE ANALYSEN</u>	29

3. ERGEBNISTEIL 1: KONVENTIONELLE STATISTISCHEAUSWERTUNG

30

3.1. IMMUNTHROMBOZYTOPENIE

30

3.1.1. ITP-Gesamtkollektiv

30

3.1.1.1. Mitogen- und Antigenstimulation

30

3.1.1.1.1. Mitogene

30

3.1.1.1.2. Antigene

30

3.1.1.2. Suppressorzellaktivität

30

3.1.1.3. T-Zellsubfraktionen

31

3.1.2. ITP-Untergruppen

31

3.1.2.1. ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber)

32

3.1.2.1.1. Mitogen- und Antigenstimulation

32

3.1.2.1.1.1. Mitogene

32

3.1.2.1.1.2. Antigene

32

3.1.2.1.2. Suppressorzellaktivität

33

3.1.2.1.3. T-Zellsubfraktionen

34

3.1.2.1.4. Vergleich der ITP-Untergruppen

A (Hauptabbauort Milz) und

B (Hauptabbauort Leber)

34

3.1.2.1.4.1. Mitogen- und Antigenstimulation

34

3.1.2.1.4.1.1. Mitogene

35

3.1.2.1.4.1.2. Antigene

35

3.1.2.1.4.2. Suppressorzellaktivität

35

3.1.2.1.4.3. T-Zellsubfraktionen

35

3.1.2.1.4.4. Zusammenfassende Betrachtung
des Vergleichs

36

3.1.2.2. ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis
2 Tage) und D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

36

3.1.2.2.1. Mitogen- und Antigenstimulation

36

3.1.2.2.1.1. Mitogene

36

3.1.2.2.1.2. Antigene

36

3.1.2.2.2. Suppressorzellaktivität

37

3.1.2.2.3. T-Zellsubfraktionen

37

3.1.2.2.4. Vergleich der ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 2 Tage) und D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)	38
3.1.2.2.4.1. Mitogen- und Antigenstimulation	38
3.1.2.2.4.1.1. Mitogene	38
3.1.2.2.4.1.2. Antigene	38
3.1.2.2.4.2. Suppressorzellaktivität	39
3.1.2.2.4.3. T-Zellsubfraktionen	39
3.1.2.2.4.4. Zusammenfassende Betrachtung des Vergleichs	39
3.1.3. Diskussion Immunthrombozytopenie	40
<u>4. ERGEBNISTEIL 2 - CLUSTERANALYSE</u>	45
<u>4.1. STATISTISCHE METHODEN</u>	45
<u>4.2. KONTROLLEN</u>	46
4.2.1. Ergebnisse	46
4.2.2. Diskussion	47
<u>4.3. IMMUNTHROMBOZYTOPENIE</u>	49
4.3.1. Ergebnisse	49
4.3.1.1. ITP-Gesamtkollektiv	49
4.3.1.1.1. Mitogen- und Antigenstimulation	49
4.3.1.1.2. Suppressorzellaktivität	50
4.3.1.1.3. T-Zellsubfraktionen	50
4.3.1.2. ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber)	51
4.3.1.2.1. Mitogen- und Antigenstimulation	51
4.3.1.2.2. Suppressorzellaktivität	52
4.3.1.2.3. T-Zellsubfraktionen	53
4.3.1.3. ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 2 Tage) und D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)	54
4.3.1.3.1. Mitogen- und Antigenstimulation	54
4.3.1.3.2. Suppressorzellaktivität	55

4.3.1.3.3. T-Zellsubfraktionen	55
4.3.2. Diskussion	56
<u>5. ZUSAMMENFASSENDE DISKUSSION DER ERGEBNISTEILE 1 UND 2</u>	59
<u>6. IMMUNGENETISCHER ANHANG</u>	63
<u>6.1. EINLEITUNG</u>	63
6.1.1. Das HLA-System des Menschen	63
<u>6.2. FRAGESTELLUNG</u>	66
<u>6.3. MATERIAL UND METHODEN</u>	67
6.3.1. Probanden	67
6.3.1.1. Immunthrombozytopenie	67
6.3.1.2. Kontrollen	68
6.3.2. Untersuchungen	68
6.3.2.1. Bestimmung der HLA-A, HLA-B und HLA-Cw Antigene	68
6.3.3. Mathematische Methodik	69
<u>6.4. ERGEBNISSE</u>	71
6.4.1. Gesamtkontrollkollektiv	71
6.4.2. Kontrollcluster	71
6.4.2.1. Mittelhochreagentencluster 1	71
6.4.2.2. Niedrigreagentencluster 2	72
6.4.2.3. Hochreagentencluster 3	73
6.4.3. Immunthrombozytopenie	73
<u>6.5. DISKUSSION</u>	75
<u>7. ZUSAMMENFASSUNG</u>	78
<u>8. TABELLEN</u>	80

<u>9. ABBILDUNGEN</u>	142
<u>10. LITERATURVERZEICHNIS</u>	184
<u>11. DANKSAGUNG</u>	208
<u>12. LEBENSLAUF</u>	209



1. EINLEITUNG

1.1. ALLGEMEINES

Erste und immer wieder bestätigte Erfahrungen seit dem frühen Altertum zeigen, daß Individuen, die eine Infektionskrankheit (z.B. Pest oder Pocken) überleben, bei einer zweiten Epidemie vor der Krankheit geschützt bleiben. Diesen Zustand des Organismus, der sich im Anschluß an eine Primärinfektion entwickelt, bezeichnet man als Immunität. Um aber diesen Zustand der Immunität zu erreichen, muß der Organismus des betroffenen Individuums während des Kampfes der Primärinfektion die Oberhand behalten. Im Laufe des Lebens steht jedes Lebewesen in permanenter Auseinandersetzung mit von außen in ihn eindringenden fremden Agentien. So befindet sich jedes Individuum in einem Gleichgewichtszustand mit seiner antigenen Umwelt. Im Endeffekt entscheidet dieser ständige Kampf um die Integrität des Organismus über Gesundheit oder Krankheit.

Die Abwehrmechanismen in diesem ständigen Konflikt sind teils zellulärer und teils nicht zellulärer, sogenannter humoraler Natur. Einige sind angeboren, zu ihrer Manifestation bedarf es keines vorangegangenen Antigenkontaktes. Sie sind einem breiten Spektrum von antigenen Strukturen gegenüber wirksam, also unspezifisch. Im Gegensatz dazu werden bestimmte Abwehrmechanismen erst nach einem Antigenkontakt erworben. Nun richten sich die auf diese Weise entstandenen Abwehrmechanismen gegen das Agens, das ihre Entstehung ausgelöst hat. Somit sind sie spezifisch (72, 102, 112). Die unspezifischen Abwehrmechanismen, einerseits humorale wie Komplement, Properdin, Interferon, Lysozym und basische Polypeptide (1, 75, 123, 150, 162, 163, 177, 183, 198, 216, 222), andererseits zelluläre wie Phagozytose, Zyto-

lyse und Bakterizidie durch Mikro- und Makrophagen (147, 179, 182, 209, 228) sind wesentlich durch genetische Faktoren bestimmt (38, 81). Aus diesem Grund sind die Unterschiede in der Immunität gegenüber pathogenen Mikroorganismen zwischen Individuen derselben Spezies weniger ausgeprägt als zwischen verschiedenen Spezies (45, 81, 112, 126, 212).

Einige unspezifische Abwehrmechanismen wie die Phagozytose und die Bildung verschiedener löslicher Abwehrstoffe treten entwicklungsgeschichtlich früh auf und finden sich in einfacher Form bereits bei Einzellern, dann in voller Ausprägung bei Würmern und Insekten (131, 179, 182, 200). Bei den Wirbellosen fehlt jedoch die Spezifität einer Antigen-Antikörper-Bindung und die daraus resultierende Gedächtnisleistung ("Memory"), die bei einer Sekundärinfektion die sofortige und verstärkte Bildung von spezifischen Antikörpern zur Folge hat (192, 200).

Die Wirbeltiere besitzen dagegen neben den angeborenen unspezifischen Abwehrmechanismen auch die Fähigkeit, sowohl auf eindringende Antigene mit Bildung von spezifischen Antikörpern zu reagieren (11, 35, 99, 192, 200), als auch frühere Kontakte mit fremden, antigenen Strukturen im Gedächtnis zu behalten und einer erneuten Disposition eine schnelle Immunantwort folgen zu lassen. Diese großartigen Leistungen unseres Immunsystems werden von lymphoiden Zellen ausgeführt (29, 155).

1.2. DER LYMPHOZYT UND SEINE BEDEUTUNG FÜR DAS IMMUNSYSTEM

Aus den bereits dargelegten immunologischen Vorgängen geht hervor, daß bei den Wirbeltieren, insbesondere beim Säuger, die lymphoiden Zellen eine zentrale Stellung als Träger der

spezifischen Immunabwehr einnehmen. Lymphozyten sind die einzigen Zellen des Immunsystems, die Antigene erkennen und darauf reagieren können. Somit sind sie allein für die Spezifität immunologischer Reaktionen verantwortlich (217).

Im peripheren Blut erwachsener Menschen beträgt der Anteil der Lymphozyten zwischen 25-40% der dort zirkulierenden Leukozyten. Absolut gesehen findet man 1000-3600 Zellen pro Mikroliter peripheren Blutes. Diese in der Blutbahn zirkulierenden Lymphozyten machen jedoch nur etwa 4% der Gesamtlymphozytenzahl des Organismus aus. Die Hauptmasse befindet sich mit 70% in den lymphatischen Organen, 10-20% in anderen Geweben und schließlich etwa 10% im Knochenmark. Daraus geht hervor, daß der Lymphozyt eher eine Gewebs- als eine Blutzelle ist. Trotzdem sind die im Blut zirkulierenden Lymphozyten von großer diagnostischer Bedeutung (8, 63).

Betrachtet man den Blutausstrich im Lichtmikroskop so kann man die Lymphozyten nach ihrem Zelldurchmesser in Gruppen einteilen. Die größte Gruppe bilden die kleinen Lymphozyten mit einem Durchmesser von 10 μ . In der panoptischen Färbung nach Pappenheim (152) wird ihr runder Kern als nahezu homogene Struktur tief dunkelblau gefärbt und vom mittelblauen sehr schmalen Plasma scharf abgegrenzt. Daneben findet man die sogenannten großen Lymphozyten mit einem Zelldurchmesser von 10-25 μ . Die Färbung des Kerns und des Plasmas entspricht derjenigen der kleinen Lymphozyten, der Kern selbst ist jedoch häufig auf der einen Seite eingedellt. Die kleinen und großen Lymphozyten machen etwa 90% der zirkulierenden Blutlymphozyten aus. Andere Lymphozyten, die meist groß sind, haben in ihrem Plasma violett-rötliche Granulationen. Ebenfalls finden sich atypische lymphatische Zellen ("monozytoide Lymphozyten") mit einem sehr hellen Zytoplasma und rötlich bis violetten Granula (8, 10, 211). Diese beiden besonders strukturierten Lymphozytenformen findet man ge-

häuft bei Infekten und verschiedenen Reizzuständen. Die zuletzt beschriebenen atypischen lymphatischen Zellen werden oft in der DNS-Synthesephase beobachtet (188, 227).

Elektronenmikroskopisch zeigt das Zytoplasma des Lymphozyten wenige große Mitochondrien, die vorwiegend in der Golgizone liegen und gleichmäßig verteilte dichte Ribosomengranula. Die Kernmembran besitzt eine doppelte Konturierung, das Kernchromatin enthält massive Granula. Das Zytoplasma nimmt während der Zellreifung an Umfang stetig ab (16, 62).

Was ihre Lebensdauer betrifft, so bilden die Lymphozyten eine recht heterogene Gruppe. Es gibt welche die nur 1-12 Tage überleben, morphologisch können sie klein oder groß sein. Daneben existieren kleine Lymphozyten mit einer Lebenszeit von einigen hundert Tagen und weitere, ebenfalls kleine Lymphozyten, die vermutlich mehrere Jahrzehnte überleben können. Etwa 90% der im Blut zirkulierenden Lymphozyten sind langlebige Zellen (8, 63, 203).

Bis Ende der fünfziger Jahre dieses Jahrhunderts konnten die lymphatischen Zellen nur durch morphologische Kriterien beschrieben und definiert werden. Erst danach wurden die vielfältigen Funktionen der lymphatischen Zellen des Immunsystems, deren Herkunft, Reifung und Subpopulationen, im Lauf der Zeit entdeckt. Seither gilt die Einteilung der Lymphozyten in zwei große Gruppen nach dem Ort der immunologischen Prägung. Die im Thymus geprägten Lymphozyten bezeichnet man als T-Lymphozyten, die im sogenannten Bursaäquivalent geprägten sind die B-Lymphozyten. Beim Bursaäquivalent des Menschen handelt es sich am wahrscheinlichsten um das Knochenmark. Diese beiden großen unterschiedlichen Lymphozytengruppen leiten sich über eine gemeinsame lymphatische Stammzelle von einer omnipotenten Stammzelle

im Knochenmark ab, können im Lichtmikroskop aufgrund ihrer Morphologie nicht unterschieden werden, übernehmen aber in der spezifischen Immunabwehr verschiedene Funktionen, die sie dank ihrer differentiellen immunologischen Prägung auszuführen vermögen (85, 125).

1.2.1. B-Lymphozyten

Bei den Vögeln werden diese Lymphozyten in der Bursa Fabricii, einem lymphatischen Organ des Enddarms geprägt (78). Bei den Säugern sind bisher die B-Lymphozyten prägenden bursaähnliche Organe nicht bekannt (104, 114, 167). Diese B-Lymphozyten (bursa-equivalent-dependent-lymphocytes) besitzen an ihrer Zelloberfläche verschiedene Marker. Die Mehrzahl der B-Lymphozyten trägt Immunglobuline vom IgM-Typ und vom IgD-Typ (70, 178). Diese Immunglobuline sind integraler Bestandteil der Zellmembran dieser Zellen (8, 101). Das IgM-Molekül stellt den Rezeptor für die Antigenbindung dar. Aus diesen relativ unspezifischen B-Lymphozyten dürfen nach entsprechendem Antigenkontakt weitere Zellen hervorgehen, die dann spezifische Antikörper der Immunglobulinlinklassen produzieren (84, 224). Dabei soll der IgD-Rezeptor eine zentrale Stellung einnehmen. Ebenfalls wird vermutet, daß IgD-B-Lymphozyten möglicherweise B-memory-Zellen sein könnten (153, 215). Weiterhin verfügt die Mehrzahl der B-Lymphozyten auf ihrer Oberfläche über Fc- und Komplementrezeptoren. Mit Hilfe der Fc-Rezeptoren können B-Zellen an das Fc-Fragment einer Ig-Klasse gebunden werden, die genaue Funktion dieser Rezeptoren ist dagegen weitgehend ungeklärt. Die Komplementrezeptoren erlauben die Bindung der B-Zellen an Antigen-Antikörper-Komplexe, die wiederum Komplement gebunden haben (8, 112, 125).

Werden B-Lymphozyten durch verschiedene Substanzen wie Mi-

togene oder Antigene stimuliert, so proliferieren sie zu großen Blasten, die sich weiter zu Plasmazellen differenzieren, die dann spezifische Ig-Klassen in die Blutbahn sezernieren (112).

Aus immunfluoreszenzmikroskopischen und autoradiographischen Untersuchungen geht hervor, daß der Anteil der B-Lymphozyten etwa 22-36% an der Gesamtlymphozytenzahl beträgt. Sie lassen sich im lymphatischen System vor allem in den Lymphfollikeln und den peripheren Anteilen der weißen Milzpulpa, in den Follikeln und im Mark der Lymphknoten und in den Follikeln der Peyerschen Plaques des Dünndarms nachweisen. Deshalb werden diese Regionen als thymusunabhängig bezeichnet (80, 154). Die Mehrzahl der B-Lymphozyten, die ins periphere Blut übertritt, rezirkuliert nicht mehr in die lymphatischen Organe. Die Lebensdauer der meisten B-Lymphozyten ist kurz. Einige langlebige Zellen gibt es nur in den äußeren kortikalen Anteilen der Lymphknoten (8, 203).

Wie bereits dargestellt besteht die wichtigste Funktion der B-Lymphozyten in ihrer Fähigkeit auf immunogene Reize mit der Bildung von spezifischen Antikörpern der Ig-Klassen zu antworten. Somit sind sie die elementaren Träger der spezifischen humoralen Immunantwort (215).

1.2.2. T-Lymphozyten

Lymphatische Stammzellen des Knochenmarks, die keine immunologische Kompetenz aufweisen, wandern in den Thymus ein. Sie werden dort unter dem Einfluß von Thymosin, Thymopoietin und wahrscheinlich anderen Faktoren zu immunkompetenten T-Zellen (thymus-dependent-lymphocytes) geprägt (6, 112, 151). Diese T-Lymphozyten, die eine funktionell äußerst heterogene Zellpopulation darstellen, sind für die spezifische zelluläre Immunreaktion verantwortlich. Dazu gehören

unter anderem die Transplantatabstoßung, die selektive Ausschaltung von transformierten Zellen (z.B. Tumorzellen), aber auch die Allergie vom verzögerten Typ (Tuberkulinreaktion). Ebenso spielen die Subpopulationen der T-Zellen eine wichtige Rolle bei der Koordination des Ablaufs von Immunreaktionen und wirken regulierend auf die Aktivität der B-Zellen. Die Zuordnung dieses großen Aufgabenbereichs an die T-Zellen wird durch Beobachtungen belegt, daß diese umfangreichen Funktionen bei angeborener Hypo- oder Aplasie des Thymus (Di-George-Syndrom, athymische nackte Maus) gänzlich fehlen oder stark eingeschränkt sind (8, 72, 102, 112).

Durch tierexperimentelle Untersuchungen ist es gelungen die differenten Funktionen und Leistungen einerseits der B-, andererseits der T-Zellen bzw. deren Fehlen darzulegen. Entfernt man bei Vögeln am ersten Lebenstag die für die B-Zellprägung wichtige Bursa Fabricii, so resultiert daraus eine komplette Agammaglobulinämie bei Fehlen von Plasmazellen und Keimzentren. Die zellulären Immunmechanismen, wie die Fähigkeit zur Transplantatabstoßung, bleiben erhalten (31, 219). Bei perinatal thymektomierten Vögeln fällt dagegen die zelluläre Immunität aus, währenddessen die Bildung von Antikörpern der Ig-Klassen, also die humorale Komponente, nicht beeinflußt wird (218). Diese eindeutige anatomische Zuordnung von humoraler und zellulärer Immunität zu diesen beiden lymphatischen Organen bei den Vögeln erlaubt eine klare Abgrenzung dieser beiden Grundtypen der Immunität (112).

Wie schon gesagt unterscheiden sich T- und B-Lymphozyten unter dem Lichtmikroskop aufgrund ihrer Morphologie nicht. Ein Unterschied bezüglich der Zelloberfläche läßt sich elektronenoptisch feststellen: B-Lymphozyten besitzen zahlreiche Mikrovilli und erscheinen daher stachelig im Vergleich mit den relativ glatten T-Zellen (124, 166). Ein an-

derer Unterschied besteht in der Fähigkeit der T-Zellen an ihrer Zelloberfläche Schafeserythrozyten zu binden und mit ihnen sogenannte Rosettenformationen zu bilden. Diese Reaktion ist nicht immunologischer Natur, sie ist durch die Membranbeschaffenheit der T-Zellen, die Rezeptoren für Schafeserythrozyten aufweisen, mechanischen Ursprungs (65).

Etwa 37-74% der Blutlymphozyten sind rosettenbildende T-Zellen. In lymphatischen Organen befinden sie sich vor allem in den periarteriolen Zonen der Milz, den parakortikalen Regionen der Lymphknoten und den interfollikulären Regionen der lymphatischen Organe (80, 154). Von Zeit zu Zeit begibt sich die Mehrzahl dieser in den lymphatischen Geweben befindlichen T-Lymphozyten auf Wanderschaft und erreicht über die Lymphbahnen und den Ductus thoracicus die Blutbahn. Von dort kehren sie, je nach Länge des Aufenthaltes, wiederum in die thymusabhängigen lymphatischen Organe zurück. Der größte Teil der T-Zellen ist langlebig, deshalb sind sie in der Lage solche Wanderungen im Verlauf ihres Lebens wiederholt durchzumachen. Da sie intermittierend die ganze Zeit über unterwegs sind (mobiler Pool), stehen zu jeder Zeit in jeder Körperregion T-Lymphozyten zur Verfügung bzw. werden bei Bedarf rasch nachgeliefert (8, 112, 203).

Auf antigenen Reiz hin gehen aus den T-Zellen große Lymphoblasten hervor, die Wirkstoffe mit chemotaktischer, mitogener und zytotoxischer Aktivität, sogenannte Lymphokine, bilden und an die Umgebung abgeben (46, 226). Es wird angenommen, daß aus solchen T-Lymphoblasten die langlebigen T-memory-Zellen hervorgehen, die Informationen über die charakteristischen Merkmale der entsprechenden Antigene über Jahrzehnte hinweg speichern. Bei einem erneuten Antigenkontakt kann diese Information mittels der Lymphokine an andere immunkompetente Zellen weitergegeben und eine rasche

spezifische Immunantwort in Gang gebracht werden (26, 28, 169, 197, 204).

Seit längerer Zeit vermutete T-Zellsubfraktionen können erst seit einigen Jahren, als die Möglichkeit zur Unterscheidung aufgrund von Oberflächenmarkern entdeckt wurde, gegeneinander abgegrenzt werden. Als erstes gelang dies bei der Maus mit Hilfe des Lyt-Antigensystems (Lyt 1, Lyt 2, Lyt 3), die nur auf T-Lymphozyten und ihren Subpopulationen in differenter Verteilung vorkommen (217). In Anlehnung an dieses Modell aus dem Tierexperiment gelingt es in letzter Zeit mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern (OKT-System: OKT 3, OKT 4, OKT 8) die T-Zellsubpopulationen des Menschen zu charakterisieren. Diese zwei Antigensysteme, Lyt bei der Maus und OKT beim Menschen, sind wahrscheinlich analoge Oberflächenmarker der T-Lymphozyten und ihrer Subpopulationen verschiedener Spezies. Sie sind wahrscheinlich genetisch determiniert und bedürfen keines Antigenkontaktes. Der Thymozyt weist sie in voller Ausprägung auf. Die endgültige Verteilung des Phänotyps der T-Zellsubpopulationen geschieht dann während der weiteren Reifung (120, 217).

1.2.2.1. T-Helferzellen

Den T-Helferzellen wird bei der Aktivierung und Steuerung der Immunantwort eine Schlüsselrolle zugesprochen. Sie entstehen aus immunkompetenten T-Zellen im Laufe der weiteren Reifung und werden durch die Antigenpräsentation der Makrophagen aktiviert. Diese Aktivierung kann von den T-Suppressorzellen durch die Bildung von Prostaglandinen und weiteren Mediatorsubstanzen im Sinne einer negativen Rückkopplung antagonisiert werden (140, 221).

Die aktivierten T-Helferzellen sezernieren Lymphokine in

die Umgebung und locken weitere antigenpräsentierende Makrophagen an. Sie induzieren ebenfalls die Proliferation von immunkompetenten B-Lymphozyten, die sich zu Plasmazellen differenzieren und die Produktion von spezifischen Immunglobulinen einleiten. Es gibt aber auch einige thymusunabhängige Antigene, die ohne Mitwirkung der T-Helferzellen in der Lage sind die spezifische humorale Immunantwort der B-Lymphozyten auszulösen (76, 165, 205). Ebenfalls sind T-Helferzellen in der Lage nach antigener Stimulation Interleukin 2 (IL 2) zu produzieren und dadurch die Bildung von zytotoxischen T-Zellen in Gang zu bringen (202).

Mittels monoklonaler Antikörper gelingt der Nachweis von OKT 4 Antigenen an der Zelloberfläche der T-Helferzellen des Menschen, die wahrscheinlich dem Lyt 1 Antigen der T-Helferzellen der Maus entsprechen. Durch diese Methode werden die T-Helferzellen als eigenständige Subpopulation innerhalb der T-Lymphozyten definiert (120).

1.2.2.2. Zytotoxische T-Zellen

Die zytotoxischen T-Zellen sind die eigentlichen Effektorzellen der spezifischen zellulären Immunabwehr. Ihre Aktivität wird durch die T-Suppressorzellen kontrolliert, die wiederum eine eigenständige T-Zellsubpopulation darstellen. Zytotoxische T-Zellen greifen nach entsprechender Stimulation durch die T-Helferzellen entweder direkt die Antigene selbst oder Zielzellen die Antigene enthalten an. Dazu ist im ersten Fall die Übereinstimmung der Rezeptoren der zytotoxischen T-Zellen mit den Epitopen des Antigens nötig, im zweiten Fall die Identität der Histokompatibilitätsantigene von zytotoxischer T-Zelle und antigentragender Zielzelle, die in der Regel körpereigene Zellen oder Mikro- bzw. Makrophagen sind (9).

Ein Anteil der zytotoxischen T-Zellen besitzt auf der Zelloberfläche Fc-Rezeptoren. Deshalb besitzen diese Zellen die Fähigkeit sich an diejenigen antigenhaltigen Zielzellen anzulagern und zu vernichten, die auf ihrer Zelloberfläche Antikörper tragen (136). Die endgültige Vernichtung und Abräumung der antigenhaltigen Zielzellen geschieht dann mit Hilfe der Makrophagen, die mittels Lymphokine vermehrt angelockt und aktiviert werden (121, 206).

Bei der Definition als eigenständige T-Zellsubpopulation sind die zytotoxischen T-Zellen im monoklonalen Antikörpertest OKT 8 Antigen positiv, das dem Lyt 2/3 Antigen der Maus entspricht (120).

1.2.2.3. T-Suppressorzellen

T-Suppressorzellen stellen als eigenständige T-Subpopulation den regulierenden Teil im Immunsystem dar. Sie wirken als Gegenpart der T-Helferzellen in dem sie die B-Zellen und damit die Antikörperproduktion, die Bildung von zytotoxischen T-Zellen und die Aktivität der Makrophagen mittels Lymphokine kontrollieren und gegebenenfalls im Sinne einer negativen Rückkoppelung auch hemmen. Diese Hemmung kann eine Immunantwort vollständig unterdrücken, wobei eine Immuntoleranz entsteht. Für diese Immuntoleranz gegenüber zahlreichen Nahrungsantigenen sind wahrscheinlich die T-Suppressorzellen in den Peyerschen Plaques des Dünndarms verantwortlich (127, 140).

Man unterscheidet zwei Typen von T-Suppressorzellen. Die einen sind antigenspezifisch, vermögen nur Immunreaktionen gegenüber dem Antigen zu unterdrücken, das ihre Bildung induziert hat. Die anderen sind nicht antigenspezifisch, sie vermögen jede Immunreaktion zu unterdrücken (112).

T-Suppressorzellen haben auf ihrer Zelloberfläche sowohl Histamin- und Fc-Rezeptoren als auch OKT 8 Antigene, die sie als T-Zellsubpopulation ausweisen. Ihre Abgrenzung gegen die zytotoxischen T-Zellen, die ja auch OKT 8 Antigen-träger sind, gestaltet sich schwierig (60, 195, 217).

Die T-Suppressorzellaktivität kann in vivo und in vitro als Antikörperproduktion der B-Lymphozyten, Graft-versus-host-Reaktion vor allem nach allogener Knochenmarktransplantation, Mitogenantwort, gemischte Lymphozytenkultur (MLC) und CML erfaßt werden (27, 44, 66, 77, 91, 97, 157, 173).

1.2.3. Nullzellen

Bei der Bestimmung von B- und T-Lymphozyten liegt ihre Gesamtsumme unter 100% der gesamten Lymphozytenzahl. Diese Tatsache legte schon früher die Vermutung nahe, daß außer den klassischen B- und T-Lymphozyten noch weitere Subpopulationen existieren könnten. Da diese Zellen bei der Doppelmarkierung von B- und T-Zellen keine Markierung zeigen, bezeichnet man sie als Nullzellen. Zu dieser Lymphozyten-subpopulation, die etwa 10% der Gesamtlymphozytenzahl beträgt, gehören die K-Zellen (Killer-Zellen) und die NK-Zellen (Natural-Killer-Zellen). Sie sind Zellen mit zytolytischer Aktivität und gehören morphologisch, auch nach ihrer Ultrastruktur, eindeutig zu den Lymphozyten. Die tierexperimentelle Beobachtung, daß athymische Mäuse bis zu 20% der Gesamtlymphozytenzahl Null-Zellen aufweisen, unterstützt die Annahme, daß die Null-Zellen unreife Vorläuferzellen von T-Lymphozyten darstellen (8, 87, 112, 217).

K-Zellen tragen auf ihrer Zelloberfläche Fc-Rezeptoren, die für die Anlagerung an die antikörperbeladene Zielzelle von großer Bedeutung und somit Voraussetzung für die Zytolyse

sind. Daraus ist ersichtlich, daß die lytische Aktivität der K-Zellen von der Kooperation mit den antikörperproduzierenden B-Lymphozyten abhängt, da die Erkennung und Zytolyse der Zielzellen nur in Gegenwart von Antikörpern möglich ist. Dagegen vermögen die NK-Zellen bestimmte Zielzellen über eine direkte zytotoxische Reaktion anzugreifen und abzutöten. Das ist der Ausdruck ihrer spontanen zytolytischen Aktivität, die keiner weiteren immunologischen Unterstützung bedarf. Diese natürliche zytolytische Aktivität der NK-Zellen kann durch Interferon stark gesteigert werden. Die Bedeutung der K- und NK-Zellen liegt höchstwahrscheinlich vor allem in der Abwehr von Tumorzellen (96, 112, 142, 159, 161, 207, 217).

1.3. DER ABLAUF VON IMMUNREAKTIONEN

Die Aufrechterhaltung eines Gleichgewichtszustands zwischen Organismus und antigener Umwelt beruht auf einem fein abgestimmten Zusammenwirken der verschiedenen unspezifischen wie spezifischen, humoralen wie zellulären Komponenten des Immunsystems.

In den Organismus eindringende Fremdstoffe gelangen normalerweise in die lokalen oder regionalen lymphatischen Organe wie Lymphknoten, Tonsillen, Peyersche Plaques, oder sie werden in den Sinusoiden der Milz oder der Leber abgefangen. In diesen Organen erfolgt der Antigenkontakt mit spezifischen immunologischen Strukturen. Bevor sie aber in diese Organe des Immunapparats gelangen, werden sie durch unspezifische humorale Faktoren wie Lysozym, Properdin und Komplement beschädigt oder teilweise zerstört und so den zellulären Elementen des Immunsystems vorpräpariert. Spaltprodukte des Komplements wirken dabei chemotaktisch auf Mikro- und Makrophagen, fördern ihre Phagozytosefähigkeit

und die Degranulation von Mastzellen und basophilen Granulozyten (1, 72, 102, 112, 150, 177, 183, 192, 198, 222).

Die durch die unspezifischen humoralen Faktoren vorpräparierten Antigene werden von Mikro- und Makrophagen phagozytiert. Diese Zellen des mononukleären Phagozytensystems bereiten die antigenen Strukturen der Fremdzellen auf und präsentieren sie den Lymphozyten. Ein Nebenweg der Antigenpräsentation besteht in der Vorschädigung durch unspezifische humorale Faktoren und direkten Lymphozytenkontakt des Antigens unter Umgehung der Mikro- und Makrophagen (8, 72, 147, 179, 182, 192, 209, 228).

Die durch antigenen Strukturen aktivierten Lymphozyten geben Lymphokine in die Umgebung ab. Diese Mediatorsubstanzen aktivieren und locken weitere Mikro- und Makrophagen an, wodurch die Antigenpräsentation vermehrt wird und zusätzliche Lymphozyten sich daran beteiligen, womit die Zahl der antigenkontaktierenden und antigenaktivierten Lymphozyten zunimmt (8, 37, 39, 46, 72, 147, 175, 192, 209, 226).

Die meisten Antigene induzieren bei diesem Kontakt mit Lymphozyten sowohl humorale wie zelluläre spezifische Immunreaktionen. Es gibt einige wenige thymusunabhängige Antigene, die in der Lage sind ausschließlich eine spezifische humorale Immunantwort auszulösen (76, 165, 205). Thymusabhängige Antigene lösen dagegen über die T-Helferzellen eine Proliferation der B-Zellen aus, die sich zu Plasmazellen differenzieren und spezifische Antikörper produzieren. Die Zusammenarbeit der T- und B-Lymphozyten wird von selbst sezernierten Mediatorsubstanzen gesteuert (37, 46, 187, 226).

Im Rahmen von Immunreaktionen entstehen wahrscheinlich langlebige T- und B-memory-Zellen, die Informationen über die Erkennungsmerkmale des auslösenden Antigens speichern

und bei einem Sekundärkontakt mit dem selben Antigen eine weitaus stärkere und rasche Immunreaktion ermöglichen (9, 39, 72, 125, 191, 192, 205).

Die T-Helferzellen bewirken im Rahmen einer Immunantwort nicht nur die Proliferation von B-Lymphozyten, sondern induzieren auch vor allem mittels Interleukin 2 (IL 2) die Produktion antigensensibilisierter zytotoxischer T-Zellen, die ihre Zielzellen sowohl direkt als auch antikörpervermittelt spezifisch angreifen und lysieren können (136, 202).

Einmal in Gang gebracht muß jede Immunreaktion auch gebremst werden, da sonst die Immunantwort eine überschießende Immunreaktion vom allergischen Typ oder gar eine Autoaggression zur Folge hätte. Die Rolle dieser Regulation im Verlauf von Immunreaktionen übernehmen die T-Suppressorzellen, die mittels von ihnen produzierten Mediatoren in die Aktivität der B-Lymphozyten, der anderen T-Zellsubfraktionen und der Zellen des mononukleären Phagozytensystems modulierend einwirken und auf diese Weise eine qualitativ wie quantitativ angemessene Immunantwort ermöglichen (66, 77, 91, 127, 140, 157, 173).

1.4. ZIELE DER UNTERSUCHUNG

Störungen im Ablauf dieser außerordentlich komplexen Funktionen des Immunsystems könnten Auslöser unterschiedlicher Erkrankungen sein. 1971 postulierte Fudenberg, daß alle autoaggressiven Prozesse durch niedrige Suppressorzellaktivität und somit auch unzureichende B-Zellproliferationskontrolle gekennzeichnet seien (71). Später konnte gezeigt werden, daß einige Autoaggressionskrankheiten und Krankheiten mit autoaggressivem Charakter wie der systemische Lupus erythematodes (SLE) oder die chronisch aggressive Hepatitis

tatsächlich mit niedriger Suppressorzellaktivität einhergehen (18, 98).

Eine eingeschränkte Suppressorzellaktivität könnte eine unzureichende B-Zellproliferationskontrolle und überschießende Antikörperbildung begünstigen, was wiederum die Entstehung eines autoaggressiven Prozesses bewirken könnte, wenn die außer Kontrolle geratenen Antikörper sich nicht mehr ausschließlich gegen die pathologischen Agentien richten, sondern körpereigene Strukturen als fremd erkennen und sie bekämpfen.

Es finden sich auch Hinweise, daß andere in vitro erfaßbare immunfunktionelle Parameter bei verschiedenen Krankheiten verändert sind. So zeigen die Lymphozyten von Patienten mit chronisch lymphatischer Leukämie eine verminderte Proliferationsbereitschaft auf das Mitogen Phytohämagglutinin, die von Patienten mit Morbus Hodgkin auch auf andere Mitogene (19, 20, 23, 48, 94, 95, 180). Da das Phytohämagglutinin vorzugsweise die T-Lymphozyten stimuliert, dürften diese zwei Erkrankungen durch T-Zellfunktionsstörungen gekennzeichnet sein, was beim Morbus Hodgkin als gesichert gilt (40, 48, 85, 100, 130). Auch bei der primär chronischen Polyarthrit is ist über eine von der Norm abweichenden Lymphozytenreaktivität auf mitogenen Reiz berichtet worden (32, 57, 58). Beim Mammakarzinom wurde sogar der Zusammenhang zwischen mitogener Lymphozytenstimulierbarkeit und Erfolg der Chemotherapie untersucht (107). Weiterhin gibt es eine Reihe von Arbeiten über immunfunktionelle Störungen bei der Histiozytose-X (56, 59), der Myokarditis und der Kardiomyopathie (49, 50, 51, 52, 53, 54).

Die Entdeckung der monoklonalen Antikörper zur Bestimmung der T-Zellsubpopulationen führte in den letzten Jahren zu Untersuchungen von verschiedenen Erkrankungen immunologi-

scher Natur, bei denen man Verschiebungen im Bereich der unterschiedlichen T-Zellkompartimente vermutete (7, 168).

Vor dem Hintergrund dieser bisher bekannten Untersuchungen und Ergebnisse machten wir es uns zur Aufgabe diese immunologischen Untersuchungen bei der idiopathischen thrombozytopenischen Purpura (ITP) durchzuführen. Dabei tauchten zunächst folgende Fragen auf:

1. Zeigt die ITP als immunologische Erkrankung immunfunktionelle Aberrationen in vitro hinsichtlich der Lymphozytenreaktivität, Suppressorzellaktivität und T-Zellsubpopulationen?
2. Können solche immunfunktionellen Untersuchungen in vitro einen Beitrag zur Diagnose, Prognose, Therapie und zum besseren Verständnis der ITP leisten?
3. Lassen sich durch den Vergleich der Kranken mit den Normalprobanden Risikokollektive bei Gesunden erfassen?

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. PROBANDEN

Zur Klärung dieser Fragen führten wir bei Patienten mit ITP eine Reihe von immunologischen Untersuchungen *in vitro* durch.

2.1.1. Immunthrombozytopenie

Die synonyme Bezeichnung Morbus Werlhof wurde von P. T. Werlhof geprägt, der 1735 erstmals das klinische Bild einer akuten Thrombozytopenie beschrieb ohne daß ihm der Thrombozytenmangel als Ursache der verstärkten Blutungsneigung bekannt war (217).

Nachdem Anfang der fünfziger Jahre dieses Jahrhunderts einige Autoren (Epstein, Evans) Hinweise auf antikörperbedingte Thrombozytopenien erhalten hatten, gelang Harrington im Jahre 1951 mit seinem aufsehenerregenden Selbstversuch der Beweis eines humoralen Antiplättchenfaktors als Ursache des Thrombozytenmangels. Dabei infundierte er Plasma eines Patienten mit Immunthrombozytopenie sich selbst und entwickelte daraufhin prompt einen Thrombozytenmangel, der seinen Höhepunkt nach 3 Stunden erreichte und sich erst nach 4-6 Tagen normalisierte (93).

Diese Befunde wurden 1965 von Shulman bestätigt und es gelang den für die Thrombozytopenie verantwortlichen Plasmafaktor als IgG-Immunglobulin zu identifizieren und ihn an der Thrombozytenoberfläche von Patienten mit ITP nachzuweisen. In der Folge wurden verschiedene Methoden entwickelt um diese Autoantikörper im Serum nachzuweisen (Müller-Eck-

hardt, Dixon, Hedge, Karpatkin und Siskind). Sie sind sehr aufwendig und für die tägliche klinische Routine größtenteils nicht geeignet. Trotzdem gelingt der Nachweis dieser Autoantikörper höchstens in etwa 60-65% der Fälle mit ITP. Die antikörperbeladenen Thrombozyten werden durch Phagozytose im retikuloendothelialen System (RES) verstärkt abgebaut, das zu dauerhafter Verminderung der Plättchenzahl in der Peripherie führt. Der Abbau erfolgt größtenteils in der Milz, in etwa 10-15% der Fälle in der Leber. Die Milz ist gleichzeitig Hauptproduktionsort der thrombozytotoxischen Antikörper. Durch den vermehrten Abbau kommt es nicht nur zu einer zahlenmäßigen Minderung der Thrombozyten, sondern auch zu einer Verkürzung ihrer Überlebenszeit, die im Normalfall 10-12 Tage, bei den meisten ITP Patienten jedoch nur etwa 2 Tage beträgt (4, 25, 110, 217).

Die ITP kann in jedem Lebensalter sowohl in akuter als auch in chronischer Form auftreten. Im Kindesalter jedoch tritt fast ausschließlich die akute Immunthrombozytopenie auf, wobei das Verhältnis von Mädchen zu Jungen gleich ist. In etwa 50% der Fälle geht ein Virusinfekt voraus, die Krankheit heilt innerhalb von 6 Monaten aus, kann aber viele Jahre später im Erwachsenenalter erneut auftreten. Bei Erwachsenen tritt meistens die chronische Verlaufsform auf, befällt Frauen häufiger als Männer, die Prognose ist verhältnismäßig gut, obwohl die Blutungsbereitschaft oft bis zum Tod bestehen bleibt. Die Krankheit beginnt schleichend, ein vorausgegangener Virusinfekt läßt sich nicht immer verifizieren. Es besteht eine vermehrte Blutungsneigung, die sich meistens nur als dermale Petechien, Ekchymosen und Suffusionen an verschiedenen Körperteilen, vor allem an den unteren Extremitäten, manifestiert. Nicht selten sind Nasen- und Zahnfleischblutungen, aber auch Blutungen im Magen-Darm-Trakt (Teerstühle) und den ableitenden Harnwegen (Hämaturie). Die außerordentlich seltenen, aber lebensbedrohli-

chen Blutungen im Zentralnervensystem und in der Lunge sind Ausnahmesituationen. Die verstärkte Blutungsneigung kann bei der körperlichen Untersuchung mit Hilfe des Rumpel-Leede-Stauungsversuchs und der Saugglockenmethode demonstriert werden. Eine Milzvergrößerung liegt bei nur 3% der Kranken vor. Dagegen ist die Verminderung der Thrombozytenzahl, meist unter 60.000/ μ l, Vorkommen von Riesenplättchen im peripheren Blutausschlag und Erhöhung der Megakaryozytenzahl im Knochenmark charakteristisch für die ITP. Zur sicheren Diagnose müssen jegliche Zustände, die mit einer sekundären Thrombozytopenie einhergehen, ausgeschlossen werden (8, 110, 217).

Nochmals zusammenfassend die diagnostischen Kriterien der Immunthrombozytopenie, die wir zur Auswahl unserer Patienten angewendet haben:

1. Thrombozytopenie von 60.000/ μ l und darunter (8).
2. Vermehrte Plättchendestruktion und verkürzte Thrombozytenüberlebenszeit (17, 73, 108).
3. Erhöhte Megakaryozytenzahl im Knochenmark (17, 73).
4. Vorhandensein thrombozytotoxischer Antikörper ohne das gleichzeitige Vorliegen einer Sepsis oder Hypergammaglobulinämie (113, 132).
5. Ausschluss von Erkrankungen die mit einer sekundären Thrombozytopenie einhergehen wie SLE, Lymphome, Hypersplenismus, disseminierte intravasale Gerinnung und nicht zuletzt medikamenteninduzierte Thrombozytopenie (25, 110).
6. Normale Milzgröße, da eine Splenomegalie in 97% der Fälle gegen die ITP spricht (43).

Letztlich handelt es sich bei der ITP um eine Ausschlußdiagnose, ihre Pathogenese, der wahrscheinlich ein autoaggressives Geschehen zugrunde liegt, bleibt weitgehend im Dunkeln (25, 110).

Wir untersuchten 50 Patienten im Erwachsenenalter mit gesicherter ITP. Es waren 34 Frauen und 16 Männer im Alter von 18 bis 71 Jahren. Das ergibt einen Mittelwert von 43 Jahren mit einer Standardabweichung von 16 Jahren ($\bar{x} = 43$; $SD = 16$). Bei allen Patienten wurden Plättchenüberlebenszeit und Plättchenabbauort mit radioaktivem Cr-51 markierten (Behring, Marburg) Thrombozyten gemessen (17, 30, 92). Die Patienten waren zum Zeitpunkt der Untersuchung untherapiert. Ihre Thrombozytenzahlen variierten zwischen 1.000 und 60.000/ μl ($\bar{x} = 19.320$; $SD = 13.270$).

2.1.2. Kontrollen

Die Kontrollgruppe umfaßte 88 gesunde Blutspender, 56 Frauen und 32 Männer im Alter von 17 bis 57 Jahren ($\bar{x} = 31$ Jahre; $SD = 9$ Jahre).

2.2. UNTERSUCHUNGEN

Von allen Probanden wurden mononukleäre Zellen des peripheren Blutes aus frischem heparinisierten Venenblut durch Zentrifugation über einen Ficoll-Isopaque-Dichtegradienten ($d = 1,077$; Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Schweden) gewonnen, in phosphatgepufferter Kochsalzlösung ($pH = 7,2$) gewaschen und in RPMI-1640-Kulturmedium mit Hepespuffer, supplementiert mit 1% Penicillin-Streptomycin, 1% L-Glutamin (Gibco Europe, Glasgow, Schottland) und 20% humanen AB-Serum (BSD-BRK, München) aufgeschwemmt. Das Lymphozyten-Monozyten-Verhältnis dieser Suspensionen betrug bei allen

untersuchten Probanden näherungsweise 4 : 1 .

Alle in der Folge beschriebenen lymphozytenkinetischen Untersuchungen wurden im Mikrotiterplattenassay durchgeführt.

2.2.1. Mitogen- und Antigenstimulation

2.2.1.1. Mitogene

Mitogene sind aus Pflanzen extrahierbare Stoffe, die Lymphozyten zu stimulieren und zur Proliferation anzuregen vermögen (24).

Am längsten bekannt ist das Phytohämagglutinin (PHA), ein Mukoprotein aus der roten Nierenbohne (*Phaseolus vulgaris*) (103, 148, 174). Es stimuliert *in vitro* die DNS-Synthese und die mitotische Aktivität der T-Lymphozyten. Obwohl B-Lymphozyten PHA an ihrer Zelloberfläche binden, werden sie nicht zur Proliferation angeregt (48, 74, 86, 103, 148, 220, 225).

Concanavalin A, ein Lektin der Schwertbohne (*Canavalia ensiformis*), stimuliert ebenfalls nur die T-Lymphozyten, allerdings können die von den angeregten T-Zellen sezernierten Mediatorsubstanzen die B-Lymphozyten zur Mitreaktion veranlassen (3, 47, 160, 220, 225). Concanavalin A induziert *in vitro* weiterhin die Proliferation von Suppressorzellen (141, 157, 172, 173, 196).

Pokeweed Mitogen (PWM), ein Extrakt aus der Kermesbeere (*Phytolacca americana*), stimuliert die Proliferation sowohl der T-Lymphozyten als auch der B-Lymphozyten (74, 86, 164, 220).

Das sogenannte Staphylokokkenprotein (SPA) ist ein potentes B-Zellmitogen. Es induziert die Proliferation und Differenzierung von B-Lymphozyten bis Plasmazellen (68, 142). Die Zellwand der meisten Staphylokokkus aureus Stämme enthält SPA, das in Agargel mit normalen menschlichen Gamma-globulinen präzipitiert (67, 105).

Diese durch Mitogene in vitro induzierten immunologischen Reaktionen dürften ein Modell für die entsprechenden Immunmechanismen in vivo darstellen (21).

Von allen Probanden wurden 1×10^5 Lymphozyten in Mikrotiterplatten (Greiner, Nürtingen) in 200 μ l Medium gegen die folgenden Endkonzentrationen der oben kurz skizzierten Mitogene - 12,5 μ g Staphylokokkenprotein A (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Schweden), 25 μ g und 12,5 μ g Concanavalin A (Sigma Chemie, München), 2,5 μ g Pokeweed Mitogen und 1 μ g Phytohämagglutinin (Gibco Europe, Glasgow, Schottland) - exponiert. Diese Mitogenkulturen wurden 3 Tage bei 37° Celsius in einer feuchten CO₂-Atmosphäre inkubiert. Alle Ansätze wurden sechsfach durchgeführt und der 3H-Thymidineinbau (Amersham International, Amersham, England) in die Lymphoblasten-DNS mittels Flüssigkeitszintillation unter Verwendung einer 6 g PPO und 10 mg POPOP auf 1 l Toluol enthaltenden Szintillationsflüssigkeit (Carl Roth, Karlsruhe) gemessen (59).

2.2.1.2. Antigene

Varidase vermag die Lymphozyten in vitro zu stimulieren, wobei die Stärke der Lymphozytenreaktivität möglicherweise HLA-assoziiert ist. Unter Gesunden gibt es wahrscheinlich Gruppen mit unterschiedlicher Reaktivität auf Varidase, das aus einem Gemisch der extrazellulären Streptokokkenproteine

Streptokinase und Streptodornase besteht (88, 158).

Tetanustoxoid ist ein entgiftetes Ektotoxin des Bakteriums *Clostridium tetani*. Es liegt im Impfstoff Tetanol^R (Behring, Marburg) als an Aluminiumhydroxid adsorbiertes, gereinigtes Tetanusformoltoxoid vor, es stimuliert die T-Lymphozyten immunisierter Individuen mit Hilfe von Makrophagen. Diese Reaktion scheint ebenfalls HLA-abhängig zu sein. Unter gesunden Probanden lassen sich 2 Gruppen mit unterschiedlicher Reaktivität erfassen, eine große Gruppe von Niedrigreagenten und eine kleine Gruppe von Hochreagenten (22, 184).

Aus *Corynebakterium diphtheriae* wird durch die Entgiftung seines Ektotoxins ein komplexes Protein, das Diphtherietoxoid, gewonnen. Es liegt in handelsüblicher Form als Aluminiumformoltoxoid vor, stimuliert die T-Lymphozyten sowohl nichtimmunisierter als auch immunisierter Probanden, wobei die Gruppe der Immunisierten erneut aus Niedrig- und Hochreagenten besteht (133).

Tuberkulin induziert *in vitro* die Proliferation von T-Lymphozyten. Bei dieser Reaktion scheinen Makrophagen und HLA-System eine Rolle zu spielen, dabei reagieren vorimmunisierte Personen stärker als tuberkulinnegative Probanden. Die B-Lymphozyten werden nicht stimuliert. Das Protein Tuberkulin wird durch fraktionierte Fällung aus Kulturfiltraten des *Mycobacterium tuberculosis* (typus humanus) gewonnen (15, 61, 210).

Das Vacciniaantigen enthält im Pockenimpfstoff die Antigene des abgeschwächten Kuhpockenvirus, das hinsichtlich seiner antigenen Eigenschaften mit dem menschlichen Pockenvirus weitgehend identisch ist. Es bringt vor allem T-Lymphozyten, eventuell zytotoxische T-Zellen zur Stimulation. Die

Reaktionsstärke scheint erneut mit den Histokompatibilitätsantigenen assoziiert zu sein (14, 41, 90, 118, 149).

Aus Masernviren kann das Masernantigen gewonnen werden, das in der Lage ist Komplement zu binden. Weiterhin stimuliert es, in Abhängigkeit von der Konzentration, die T-Lymphozyten. Die Immunabwehr des Masernvirus ist T-lymphozytenabhängig, die Mehrzahl der T-Zellen haben Oberflächenrezeptoren für dieses Virus (83, 181, 213, 230).

Das Rötelnantigen aus Rötelnviren ist ebenfalls komplementbindend und regt die Proliferation der T-Lymphozyten an. Die Reaktivität betreffend lassen sich erneut Niedrig- und Hochreagenten voneinander abgrenzen (111, 199).

Aus bakteriellen und viralen Antigenen läßt sich ein sogenannter Antigencocktail herstellen, der sowohl T- als auch B-Lymphozyten zur Reaktion bringt, bei der der 3H-Thymidineinbau in die Lymphoblasten-DNS in der Regel höher ist als in den übrigen Antigenensystemen.

Die Stimulationsversuche führten wir gegen folgende Endverdünnungen der vom Hersteller angegebenen Stammlösungen mehrerer bakterieller - 2 µl Varidase (Lederle, Wolfratshausen), 2,5 µl Tetanustoxoid, 2,5 µl Diphtherietoxoid, 1 µl Tuberkulin GT 1 und 0,5 µl Tuberkulin GT 10 (Behring, Marburg) - und viraler - 0,5 µl Masernantigen, 0,5 µl Vacciniaantigen, 16 µl Rötelnantigen (Behring, Marburg) - Antigene durch. Außerdem wurden die Lymphozyten gegen die Endkonzentration von 2,75 µl der Stammlösung eines Antigencocktails (Op 13; Behring, Marburg), der sich aus Streptolysin O, Tuberkulin GT, Tetanustoxoid, Mumpsantigen und Vacciniaantigen zusammensetzt, stimuliert. Die Kulturen wurden 6 Tage bei 38° Celsius in einer feuchten CO₂-Atmosphäre inkubiert. Alle Ansätze wurden sechsfach durchgeführt und der 3H-Thy-

midineinbau in die Lymphoblasten-DNS mit Flüssigkeitszintillation gemessen (59).

Bei antigener Stimulation bestehen Beziehungen zwischen Lymphozytenreaktivität *in vitro* und Antikörpertitern sowie Hautreaktionen *in vivo*. Weiterhin finden sich Probandengruppen mit unterschiedlicher Reaktivität. Aus diesem Grund dürften antigenstimulierte Lymphozytenkulturen mindestens genauso gute *in vitro* Modelle von immunologischen *in vivo* Reaktionen sein wie die Mitogenkulturen.

Die untersuchten Probanden haben im unmittelbaren Vorfeld der Untersuchungen keine bakteriellen und viralen Infekte durchgemacht. Anamnestisch war Streptokokkenkontakt bei allen Probanden festzustellen. Die Tetanusimmunisierung war ziemlich niedrig und nur 10% der untersuchten Personen hatten eine komplette Impfung, die mindestens 5 Jahre zurücklag. Im Tine-Test waren 40% der Probanden tuberkulinpositiv, 30% zeigten im Thoraxröntgenbild postspezifische Veränderungen. Tuberkulinpositivität und postspezifische Lungenveränderungen korrelierten aber nicht in jedem Fall. Insgesamt hatten 52% der untersuchten Personen im Lauf ihres Lebens gesicherten Kontakt mit Tuberkelbakterien. Dagegen konnten Diphtherieinfektionen anamnestisch in keinem Fall verifiziert werden, Impfungen lagen weit über 10 Jahre zurück. Eine Pockenerkrankung konnte ebenfalls nicht festgestellt werden, eine Pockenimpfung wiesen jedoch alle Probanden auf, die aber mindestens 5 Jahre zurücklag. In der Anamnese gaben alle Probanden an eine Maserninfektion durchgemacht zu haben, die Rate der Rötelninfektionen lag bei 70%. Eine Impfung gegen Masern- und Rötelnviren wies keine der untersuchten Personen auf.

2.2.2. Suppressorzellassay

Concanavalin A (Sigma Chemie, München) wurde bis zu einer Endkonzentration von 60 µg/ml zu Lymphozytensuspensionen von 10×10^6 Zellen in 2,5 ml Kulturmedium zugegeben und bei 37° Celsius in einer feuchten CO₂-Atmosphäre 2 Tage inkubiert (196). Die Bystanderzellen wurden, abgesehen von der Concanavalin-A-Stimulation, analog behandelt. Die Responderzellen lagerten während der 2 Tage unter flüssigem Stickstoff.

Zur Stimulation der Responderzellen verwendeten wir in der gemischten Lymphozytenkultur einen Stimulatorzellpool aus Lymphozyten von 5 unverwandten, HLA-D-differenten Blutspendern und in den Mitogenkulturen die Mitogene Pokeweed Mitogen (PWM), Protein A (SPA) und Phytohämagglutinin (PHA) in den oben angegebenen Endkonzentrationen. Die Bystander-, Stimulator- und Suppressorzellen wurden vor dem Einsatz im Test in einer Cäsium-137-Quelle (Wälischmiller, Markdorf, Bodensee) mit 40 GY bestrahlt um ihre Proliferationsaktivität zu hemmen. Dagegen kamen die Responderzellen natürlich unbestrahlt in Einsatz.

Um die durch Concanavalin A induzierte Suppressorzellaktivität zu untersuchen, stimulierten wir 5×10^4 Responderzellen in Gegenwart von 5×10^4 Suppressorzellen desselben Probanden durch 5×10^4 Stimulatorzellen (Verhältnis: 1:1:1) in der gemischten Lymphozytenkultur und durch die oben genannten Mitogene in der Mitogenkultur (b_1). Analoge Stimulationen von Responderzellen durch Stimulatorzellen oder Mitogene wurden in Gegenwart von Bystanderzellen als Kontrollen durchgeführt (a_1). Gleichzeitig wurden Mediumkontrollen durchgeführt (b_2 , a_2). Die Mediumkontrolle b_2 (Responderzellen und Suppressorzellen gegen Medium) führten wir im Gegensatz zu anderen Untersuchern (196) ein, um die

Ermittlung falsch niedriger Suppressorzellaktivitäten in jedem Fall zu vermeiden, weil Concanavalin-A-Blasten 3H-Thymin trotz Bestrahlung einbauen und so die Responder-Suppressor-Counts (b_1) nicht selten höher sind als die Responder-Bystander-Counts (a_1). Deshalb erschien uns die Mediumkontrolle a_2 (Responderzellen und Bystanderzellen gegen Medium) allein unzureichend (51).

Alle Ansätze wurden erneut sechsfach durchgeführt und der 3H-Thymidineinbau in die Responderlymphoblasten-DNS mittels Flüssigszintillation gemessen. Die ermittelten Counts pro Minute benutzten wir zur Berechnung eines Hemmungsindex für die prozentuale Suppression der Responderzellblastopoese durch Concanavalin A aktivierte Lymphozyten nach folgender Formel:

$$\text{Suppression \%} = 1 - (b_1 - b_2/a_1 - a_2) \times 100$$

Da eine biologische Funktion wie die Suppressorzellaktivität einen positiven Wert haben sollte, setzten wir arithmetisch negative Suppressionswerte gleich 0%. Eine schematische Übersicht über den von uns durchgeführten Suppressorzellassay gibt die Abbildung 1. Mittlerweile ist dieser Assay umstritten, weil nach neueren Erkenntnissen die Suppressorzellnatur Concanavalin-A-aktivierter Lymphozyten nicht mehr als gesichert gelten kann (231).

2.2.3. Bestimmung der T-Zellsubfraktionen

Die T-Zellsubfraktionen bestimmten wir mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern der bekannten OKT-Reihe (OKT 3 = alle T-Zellen, OKT 4 = T-Helferzellen, OKT 8 = T-Suppressorzellen und zytotoxische T-Zellen) (Ortho Diagnostic Systems, Raritan, New Jersey, U.S.A.) im Immunfluoreszenzassay (7,

120, 170, 171). Die Auswertung erfolgte am Immunfluoreszenzmikroskop (Orthoplan, Leitz, Wetzlar). Die Absolutwerte der einzelnen T-Zellsubfraktionen wurden aus den im Monoklonal-assay ermittelten prozentualen (relativen) Kompartimentgrößen und den aktuellen Werten des Blut- und Differentialblutbildes errechnet. Das Verhältnis von T-Helfer- zu T-Suppressorzellen (OKT 4/8) wurde ebenfalls bestimmt.

2.3. STATISTISCHE ANALYSEN

Zum Vergleich der Werte der verschiedenen Gruppen verwendeten wir zunächst den T-Test für unverbundene Stichproben ungleicher Varianz. Die resultierenden Irrtumswahrscheinlichkeiten sind bei der Vielzahl der Tests und der Korrelationen der Merkmale nicht im konfirmatorischen Sinn als korrekt anzusehen. Die angegebenen p-Werte werden als deskriptive Meßzahl betrachtet. Dies gilt auch für die Ergebnisse der Clusteranalysen.

3. ERGEBNISTEIL 1: KONVENTIONELLE MATHEMATISCHE ANALYSEN

3.1. IMMUNTHROMBOZYTOPENIE

3.1.1. ITP-Gesamtkollektiv

3.1.1.1. Mitogen- und Antigenstimulation

3.1.1.1.1. Mitogene

Die Lymphozyten der ITP-Patienten zeigen in allen getesteten Mitogensystemen ein kontrollgruppenanaloges Reaktionsverhalten (Tabelle 2).

3.1.1.1.2. Antigene

In den Antigentestsystemen reagieren die Lymphozyten der Patienten mit Immunthrombozytopenie gegen Varidase, Vacciniaantigen und Antigencocktail signifikant niedriger als die Lymphozyten der Kontrollen ($p < 0,05 - 0,01$). In den anderen Antigensystemen (Tetanustoxoid, Diphtherietoxoid, Tuberkulin GT 1, Tuberkulin GT 10, Masernantigen, Rötelnantigen) zeigen sie jedoch kontrollgruppenanaloge Reaktivität (Tabelle 3, Abbildungen 2, 3 und 4).

3.1.1.2. Suppressorzellaktivität

ITP-Patienten zeigen in den Testsystemen Protein A und Pokeweed Mitogen und auch in der gemischten Lymphozytenkultur

gegenüber den gesunden Probanden eine erniedrigte Suppressorzellaktivität, wobei der T-Test hoch bis höchst signifikante p-Werte ($p < 0,005 - 0,0005$) zeigt. Die Reaktivität im Phytohämagglutininssystem ist dagegen kontrollgruppenanalog (Tabelle 4, Abbildungen 5, 6 und 7).

3.1.1.3. T-Zellsubfraktionen

Die untersuchten ITP-Patienten haben signifikant niedrigere Lymphozytenzahlen im peripheren Blut als die Normalprobanden ($p < 0,0005$). Weiterhin sind bei ihnen die T-Zellen gesamt, die T-Helferzellen, die T-Suppressorzellen und das OKT 4/8-Verhältnis gegenüber den Kontrollen sowohl relativ als auch absolut signifikant bis höchst signifikant vermindert ($p < 0,05 - 0,0005$, Tabellen 5 und 6, Abbildungen 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 und 15).

3.1.2. ITP-Untergruppen

In einem zweiten Untersuchungsschritt haben wir das ITP-Gesamtkollektiv ($n = 50$) anhand der mittels radioaktivem Cr-51 markierten Thrombozyten gewonnenen thrombozytenkinetischen Befunde in Untergruppen eingeteilt. Erstes wichtiges Kriterium zur Gruppeneinteilung war der Hauptabbauort der Thrombozyten. So bildeten wir aus dem Gesamtkollektiv eine Gruppe A ($n = 33$), deren Angehörige die ihnen transfundierten mit radioaktivem Cr-51 markierten Thrombozyten vorzugsweise in der Milz zerstörten und eine Gruppe B ($n = 17$), in der der beschleunigte Plättchenabbau nur in der Leber, oder größtenteils in der Leber und nur zu einem geringen Teil in der Milz erfolgte. Unabhängig von dieser Einteilung bildeten wir aus dem Gesamtkollektiv nach dem Kriterium der Thrombozytenüberlebenszeit zwei weitere Gruppen. Die Gruppe

C (n = 38) bildeten die Patienten, die eine stark verkürzte Thrombozytenüberlebenszeit von nur etwa 2 bis 48 Stunden aufwiesen. In die Gruppe D (n = 12) kamen Patienten mit einer Thrombozytenüberlebenszeit von 3 bis 7 Tagen.

Dann wurden diese ITP-Untergruppen A und B auf der einen, C und D auf der anderen Seite, anhand der immunfunktionalen Untersuchungsergebnisse sowohl mit unserem Kontrollkollektiv als auch miteinander verglichen (A mit B, C mit D).

3.1.2.1. ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber)

3.1.2.1.1. Mitogen- und Antigenstimulation

3.1.2.1.1.1. Mitogene

Die Lymphozyten der Gruppe A und der Gruppe B verhalten sich, wie schon das ITP-Gesamtkollektiv (Tabelle 2), in ihrer Reaktivität in allen getesteten Mitogensystemen kontrollgruppenanalog (Tabelle 7).

3.1.2.1.1.2. Antigene

Lymphozyten der Patienten der Gruppe A (Hauptabbauort Milz) reagieren, wie die des ITP-Gesamtkollektivs (Tabelle 3, Abbildung 2), auf Varidase signifikant niedriger ($p < 0,03$) als die Kontrollen (Tabelle 8). Gegen Vacciniaantigen und den Antigencocktail, wo die Lymphozytenreaktivität des ITP-Gesamtkollektivs gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigt ist ($p < 0,05$; Tabelle 3, Abbildungen 3 und 4),

zeigt die Gruppe A nur eine im Trend erniedrigte Reaktivität (Tabelle 8). In allen anderen Testsystemen (Tetanustoxoid, Diphtherietoxoid, Tuberkulin GT 1, Tuberkulin GT 10, Masern- und Rötelnantigen) ist, wie schon beim ITP-Gesamtkollektiv (Tabelle 3), die Reaktivität der Gruppe A kontrollgruppenanalog (Tabelle 8).

Die Gruppe B (Hauptabbauort Leber) zeigt, in Anlehnung an das ITP-Gesamtkollektiv (Tabelle 3, Abbildungen 2, 3 und 4), eine signifikant erniedrigte Lymphozytenreaktivität auf Varidase und den Antigencocktail ($p < 0,005 - 0,0005$), im Vacciniaantigensystem dagegen, wie schon die Gruppe A, nur eine im Trend schwächere Reaktivität als die Kontrollgruppe (Tabelle 8). Im Gegensatz zur Gruppe A und zum ITP-Gesamtkollektiv reagieren die Lymphozyten der Gruppe B auch gegen Tetanus- und Diphtherietoxoid signifikant niedriger als die Kontrollgruppe ($p < 0,03 - 0,0005$, Tabelle 8). In den restlichen Antigensystemen (Tuberkulin GT 1, Tuberkulin GT 10, Masern- und Rötelnantigen) zeigen die Lymphozyten der Gruppe B ein kontrollgruppenanaloges Reaktionsverhalten (Tab.8)

3.1.2.1.2. Suppressorzellaktivität

Analog zum ITP-Gesamtkollektiv (Tabelle 4, Abbildungen 5, 6 und 7) zeigt die Gruppe A (Hauptabbauort Milz), das Phytohämagglutininintestsystem ausgenommen, eine gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität in den Testsystemen Protein A und Pokeweed Mitogen, sowie in der gemischten Lymphozytenkultur ($p < 0,005 - 0,0005$, Tabelle 9). Dies gilt auch für die Gruppe B (Hauptabbauort Leber) im Pokeweed Mitogentestsystem und in der gemischten Lymphozytenkultur ($p < 0,05 - 0,0005$). Die Mitogentestsysteme Phytohämagglutinin und Protein A zeigen in der Gruppe B eine der Kontrollgruppe analoge Suppressorzellaktivität (Tabelle 9).

3.1.2.1.3. T-Zellsubfraktionen

Die Gruppe A (Hauptabbauort Milz) und die Gruppe B (Hauptabbauort Leber) weisen, wie auch das ITP-Gesamtkollektiv (Tabelle 6, Abbildung 8), den Kontrollen gegenüber hoch bis höchst signifikant erniedrigte Lymphozytenzahlen im peripheren Blut auf ($p < 0,001 - 0,0005$, Tabelle 11). Ebenso sind bei diesen Gruppen, wiederum dem ITP-Gesamtkollektiv analog (Tabellen 5 und 6, Abbildungen 9, 10, 11 und 12), die T-Zellen gesamt und die T-Helferzellen gegenüber den Kontrollen sowohl relativ als auch absolut signifikant erniedrigt ($p < 0,05 - 0,0005$, Tabellen 10 und 11). Was den Anteil der T-Suppressor- und zytotoxischen T-Zellen betrifft so gilt, erneut in Anlehnung an das ITP-Gesamtkollektiv (Tabellen 5 und 6, Abbildungen 13 und 14), für die Gruppe A eine gegenüber den Kontrollen sowohl relativ als auch absolut signifikante Erniedrigung ($p < 0,005 - 0,0005$, Tabellen 10 und 11). Dies gilt auch für den absoluten Anteil der T-Suppressorzellen der Gruppe B (Tabelle 11). Im relativen Anteil der T-Suppressorzellen verhält sich die Gruppe B, im Gegensatz zur Gruppe A (Tabelle 10) und zum ITP-Gesamtkollektiv (Tabelle 5, Abbildung 13), kontrollgruppenanalog. Während die Gruppe A ein normales OKT 4/8 Verhältnis aufweist (Tabelle 10), ist dieses Verhältnis bei der Gruppe B, wie schon beim ITP-Gesamtkollektiv (Tabelle 5, Abbildung 15), gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigt ($p < 0,0005$, Tabelle 10).

3.1.2.1.4. Vergleich der ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber)

3.1.2.1.4.1. Mitogen- und Antigenstimulation

3.1.2.1.4.1.1. Mitogene

In allen getesteten Mitogensystemen (Protein A, Concanavalin A, Pokeweed Mitogen und Phytohämagglutinin) zeigen die Angehörigen beider Gruppen analoge Lymphozytenreaktivität (Tabelle 12).

3.1.2.1.4.1.2. Antigene

Gegen die Testsysteme Tetanustoxoid, Diphtherietoxoid und Antigencocktail reagieren die Lymphozyten der Angehörigen der Gruppe B signifikant schwächer als die der Gruppe A ($p < 0,03$, Tabelle 13). In den restlichen Testsystemen (Varidase, Tuberkulin GT 1, Tuberkulin GT 10, Masern-, Vaccinia- und Rötelnantigen) unterscheidet sich die Lymphozytenreaktivität beider Gruppen nicht signifikant (Tabelle 13).

3.1.2.1.4.2. Suppressorzellaktivität

Beide Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander in ihrer Suppressorzellaktivität in allen getesteten Systemen (Tabelle 14).

3.1.2.1.4.3. T-Zellsubfraktionen

Auch hinsichtlich der Lymphozytenzahl, der relativen wie absoluten T-Zell- und T-Zellsubfraktionsgrößen unterscheiden sich die beiden Gruppen nicht (Tabellen 15 und 16). Lediglich die Gruppe B zeigt eine signifikant erniedrigte OKT 4/8 Verhältnis gegenüber der Gruppe A ($p < 0,05$, Tabelle 15).

3.1.2.1.4.4. Zusammenfassende Betrachtung des Vergleichs

Die schon im Vergleich mit dem Kontrollkollektiv festgestellten nicht sehr zahlreichen Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen reduzieren sich im direkten Vergleich auf nur vier Größen mit relativ niedriger Signifikanz ($p < 0,05 - 0,03$). Aus diesem Grund ist es sehr unwahrscheinlich daß sich hinter diesen beiden thrombozytenkinetisch differanten Gruppen auch zwei immunfunktionell unterschiedliche Gruppen verbergen (Tabellen 12, 13, 14, 15 und 16).

3.1.2.2. ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 2 Tage) und D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

3.1.2.2.1. Mitogen- und Antigenstimulation

3.1.2.2.1.1. Mitogene

Die Gruppe C zeigt, wie schon das ITP-Gesamtkollektiv (Tabelle 2), ein kontrollgruppenanaloges Reaktionsverhalten auf Mitogene, gegen das hochkonzentrierte Concanavalin A (25 µg) sogar eine signifikant höhere Reaktivität als die Kontrollen ($p < 0,05$, Tabelle 17). Dagegen reagiert die Gruppe D in allen getesteten Mitogensystemen signifikant niedriger als die Kontrollen ($p < 0,05 - 0,0005$, Tab. 17).

3.1.2.2.1.2. Antigene

Die Gruppe C zeigt, analog zum ITP-Gesamtkollektiv (Tabelle 3, Abbildungen 2, 3 und 4), gegen die Antigentestsysteme

Varidase und Vacciniaantigen gegenüber der Kontrollgruppe eine signifikant ($p < 0,05 - 0,03$), gegen den Antigencocktail zumindest im Trend erniedrigte Lymphozytenreaktivität (Tabelle 18). Die Gruppe D reagiert, außer Varidase, gegen den Antigencocktail ($p < 0,005 - 0,0005$) und das Vacciniaantigen zumindest im Trend und zusätzlich gegen Tetanus- und Diphtherietoxoid deutlich signifikant niedriger als die Kontrollen (Tabelle 18).

3.1.2.2.2. Suppressorzellaktivität

Wie schon das ITP-Gesamtkollektiv (Tabelle 4, Abbildungen 5, 6 und 7) zeigt die Gruppe C, außer im Phytohämagglutininssystem, eine gegenüber den Kontrollen hoch signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität im Protein A- und Pokeweed Mitogen-Testsystem und in der gemischten Lymphozytenkultur ($p < 0,005 - 0,0005$, Tabelle 19). Das gilt ebenfalls für die Gruppe D im Protein A-Testsystem und in der gemischten Lymphozytenkultur ($p < 0,05 - 0,005$, Tabelle 19). Dagegen ist die Suppressorzellaktivität der Gruppe D im Phytohämagglutinin- und Pokeweed Mitogen-Testsystem kontrollgruppenanalog, wenn sie im letztgenannten Testsystem auch im Trend niedriger liegt als die der Kontrollgruppe (Tabelle 19).

3.1.2.2.3. T-Zellsubfraktionen

Beide Gruppen zeigen, analog zum ITP-Gesamtkollektiv (Tabelle 6, Abbildung 8), gegenüber den Kontrollprobanden höchst signifikant erniedrigte periphere Lymphozytenzahlen. Ebenfalls sind bei beiden Gruppen die gesamten T-Zellen und die T-Helferzellen, wiederum dem ITP-Gesamtkollektiv analog (Tabellen 5 und 6, Abbildungen 9, 10, 11 und 12), gegenüber

der Kontrollgruppe sowohl relativ als auch absolut höchst signifikant erniedrigt ($p < 0,0005$, Tabellen 20 und 21). Dies gilt ebenfalls für die relativen und absoluten Anteile der T-Suppressorzellen der Gruppe D ($p < 0,0005$, Tabellen 20 und 21), aber nur für den absoluten Anteil der T-Suppressorzellen der Gruppe C ($p < 0,0005$, Tabelle 21). Den relativen Anteil dieser Zellen betreffend verhält sich die Gruppe C jedoch kontrollgruppenanalog (Tabelle 20). Während bei der Gruppe C, wie schon im ITP-Gesamtkollektiv (Tabelle 5, Abbildung 15), das OKT 4/8 Verhältnis gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigt ist ($p < 0,05$), verhält sich die Gruppe D im Bezug auf das OKT 4/8 Verhältnis kontrollgruppenanalog (Tabelle 20).

3.1.2.2.4. Vergleich der ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 2 Tage) und D (Abbauzeit 3. - 7 Tage)

3.1.2.2.4.1. Mitogen- und Antigenstimulation

3.1.2.2.4.1.1. Mitogene

Die Angehörigen der Gruppe D reagieren in allen getesteten Mitogensystemen eindeutig signifikant niedriger ($p < 0,05 - 0,0005$) als die der Gruppe C (Tabelle 22, Abbildungen 16, 17, 18, 19 und 20).

3.1.2.2.4.1.2. Antigene

In den Testsystemen Tetanus-, Diphtherietoxoid und Antigencocktail reagieren die Lymphozyten der Patienten der Gruppe D ebenfalls signifikant niedriger als die der Gruppe C ($p <$

0,03, Tabelle 23, Abbildungen 21, 22 und 23). In den restlichen Antigensystemen (Varidase, Tuberkulin GT 1, Tuberkulin GT 10, Masern-, Vaccinia- und Rötelnantigen) unterscheidet sich das lymphozytäre Reaktionsverhalten der beiden Gruppen nicht signifikant (Tabelle 23).

3.1.2.2.4.2. Suppressorzellaktivität

In allen getesteten Systemen unterscheidet sich die Suppressorzellaktivität der beiden Gruppen C und D nicht signifikant (Tabelle 24).

3.1.2.2.4.3. T-Zellsubfraktionen

Die Lymphozytenzahlen des peripheren Blutes der Gruppe C und der Gruppe D unterscheiden sich nicht signifikant (Tabelle 26). Dagegen sind bei der Gruppe D die gesamten T-Zellen, aber auch die T-Suppressorzellen sowohl relativ als auch absolut gegenüber den gleichen Größen der Gruppe C signifikant erniedrigt ($p < 0,05 - 0,005$, Tabellen 25 und 26, Abbildungen 24, 25, 26 und 27). Dagegen verhalten sich beide Gruppen den relativen und absoluten Anteil der T-Helferzellen und das OKT 4/8 Verhältnis betreffend analog. Sie unterscheiden sich nicht signifikant (Tabellen 25 und 26).

3.1.2.2.4.4. Zusammenfassende Betrachtung des Vergleichs

Aus dem bereits dargestellten Vergleich dieser zwei ITP-Untergruppen C und D, die aufgrund ihrer Thrombozytenüberlebenszeit gegeneinander deutlich abgegrenzt werden können, geht eindeutig hervor, daß sich diese zwei Gruppen immu-

funktionell sehr wohl unterscheiden. Dabei weist die Gruppe D neben einem extrem stark erniedrigten T-Zell-, T-Suppressorzell- bzw. T-Effektorzellkompartiment vor allem eine deutlich niedrigere Lymphozytenreaktivität gegenüber der Gruppe C auf (Tabellen 22 mit 26, Abbildungen 16 mit 27).

3.1.3. Diskussion Immunthrombozytopenie

Wir konnten zeigen, daß Patienten mit Immunthrombozytopenie in 11 der 14 getesteten Mitogen- und Antigen-Systemen ein kontrollgruppenanaloges Reaktionsverhalten ihrer Lymphozyten aufweisen. Lediglich in den Antigentestsystemen Varidase, Vacciniaantigen und Antigencocktail reagieren sie statistisch signifikant niedriger als die gesunden Kontrollen. Ihre im Concanavalin-A-Assay gemessene Suppressorzellaktivität dagegen ist verglichen mit der der Gesunden signifikant erniedrigt. Weiterhin haben ITP-Patienten signifikant niedrigere Lymphozytenzahlen im peripheren Blut, auch ihre T-Zellen gesamt, T-Helferzellen und T-Suppressor-/Effektorzellen sind sowohl relativ als auch absolut gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erniedrigt. Das OKT 4/8 Verhältnis ist aufgrund einer stärkeren Erniedrigung des OKT 4 positiven T-Helferzellkompartiments verglichen mit der Kontrollgruppe ebenfalls signifikant erniedrigt. Aus den oben dargelegten Fakten geht hervor, daß Patienten mit ITP durch eine Reihe von immunologischen Aberrationen charakterisiert werden können.

Die Immunthrombozytopenie läßt sich in die Reihe hämatologischer Erkrankungen mit autoaggressivem Charakter einordnen, wobei die thrombozytotoxischen Autoantikörper den wichtigsten bisher bekannten pathogenetischen Faktor darstellen, in dem sie autologe Thrombozyten schädigen und zu deren raschem Abbau im retikuloendothelialen System und so

zur Thrombozytopenie in der Peripherie führen (110). Nach dem Postulat von Fudenberg sind alle autoaggressiven Krankheiten durch niedrige Suppressorzellaktivität charakterisiert (71). Dieses Phänomen konnten wir bei unseren ITP-Patienten beobachten, auch wenn die Wertigkeit der im Concanavalin-A-Assay gemessenen Suppressorzellaktivität heute umstritten ist. Diese niedrige Suppressorzellaktivität könnte, laut Fudenberg, entweder genetisch determiniert oder aber erst beim Zusammentreffen verschiedener pathologischer Faktoren im Verlauf einer Immunantwort als erworbener Immundefekt entstehen. Ein solches konditionierendes Ereignis könnte zum Beispiel eine Virusinfektion sein, die in einigen Fällen dem Auftreten der Immunthrombozytopenie in größerem Abstand vorausgeht. Eine genetisch determinierte niedrige Suppressorzellaktivität würde aber grundsätzlich die Entstehung von autoaggressiven Prozessen begünstigen. Demnach würden gesunde Personen mit niedriger Suppressorzellaktivität als Risikokollektiv für die Immunthrombozytopenie und weitere Autoaggressionskrankheiten in Betracht kommen.

Interessant ist die Tatsache, daß bei Patienten mit Immunthrombozytopenie das die T-Suppressorzellen einschließende OKT 8 positive T-Zellkompartiment sowohl relativ als auch absolut erniedrigt ist. Es wäre also denkbar, daß die bei der Immunthrombozytopenie niedrige Suppressorzellaktivität mit einer ebenfalls niedrigen Suppressorzellzahl im Zusammenhang steht. Letztlich ist aber dieser Gedanke nicht beweisbar, weil die OKT 8 positive T-Zellfraktion nicht nur aus T-Suppressorzellen besteht, sondern auch die zytotoxischen T-Zellen umfaßt. Hier würde eine genaue Differenzierung zwischen diesen zwei T-Zellarten sicherlich weitere wichtige Erkenntnisse bringen. Im übrigen ist, wie bereits ausgeführt, die Bestimmung der Suppressorzellaktivität im Concanavalin-A-Assay umstritten.

Weiterhin weist die Immunthrombozytopenie sowohl eine Erniedrigung der peripheren Blutlymphozyten- als auch der Gesamt-T-Zellzahl auf. Aufgrund der geringen Zahl der gesamten T-Zellen müßten Patienten mit ITP entsprechend einen höheren relativen B-Zellanteil (%) im peripheren Blut aufweisen, was aber zahlenmäßig bei insgesamt erniedrigter Lymphozytenzahl den Kontrollen gegenüber im Endeffekt doch geringer ausfällt. Die Erniedrigung der Blutlymphozytenzahlen bei ITP ist als möglicher Kompensationsversuch des Organismus zu deuten, um die Lymphozytenreaktivität durch Verminderung der Lymphozytenzahl zu begrenzen. Dies gilt umso mehr, da auch die T-Helferzellzahl, relativ wie absolut, und letztlich auch die absoluten B-Lymphozytenzahlen erniedrigt sind. Daraus wird der Versuch des Organismus erkenntlich, nicht nur die Zellzahl der antikörperproduzierenden B-Zellen, sondern auch die Zahl der T-Helferzellen, die das Unterstützungspotential der B-Zellproliferation darstellen, zu begrenzen.

Dieser Kompensationsversuch zur Begrenzung der Lymphozytenreaktivität ist möglicherweise erfolgreich. Er könnte langfristig gesehen zum Stillstand des autoaggressiven Geschehens führen. Dazu kommt es in der Tat in vielen Fällen der Immunthrombozytopenie nach mehr oder weniger langem Verlauf (110). Diesen Prozeß der Selbstregulation des Immunsystems könnte man dann durch eine immunsuppressive Therapie, die teilweise auch durchgeführt wird, unterstützen.

Mit Hilfe der thrombozytenkinetischen Untersuchungen, die eine Aussage über die Thrombozytenüberlebenszeit und ihren Abbauort ermöglichen, haben wir unsere ITP-Patientengruppe in Untergruppen eingeteilt: zwei Untergruppen A und B aufgrund des Thrombozytenabbauortes (A = Abbauort Milz; B = Abbauort Leber) und zwei Untergruppen C und D anhand der Thrombozytenüberlebenszeit (C = Abbauphase bis 2 Tage; D =

Abbauzeit 3 - 7 Tage). Ziel der Einteilung war die gesonderte Betrachtung, aber auch der Vergleich ihrer immunologischen Parameter.

Beim Vergleich der Gruppen A und B gelang bezüglich der immunologischen Parameter keine Abgrenzung gegeneinander. Hier handelt es sich zwar um thrombozytenkinetisch unterschiedliche, aber immunologisch analoge ITP-Untergruppen.

Dagegen gelang es uns, die zwei anderen ITP-Untergruppen C und D als immunfunktionell different gegeneinander abzugrenzen. Dabei zeigt die Gruppe D gegenüber der Kontrollgruppe in 9 von 14 Mitogen- und Antigen-testsystemen, gegenüber der Gruppe C in 8 von 14 Testsystemen statistisch signifikant niedrigere Lymphozytenreaktivität.

Die im heute umstrittenen Concanavalin-A-Assay bestimmte Suppressorzellaktivität ist bei beiden Gruppen erniedrigt und unterscheidet sich zwischen den Gruppen nicht. Die Lymphozytenzahlen im peripheren Blut sind bei beiden Gruppen C und D analog erniedrigt, ebenso verhalten sich die relativen und absoluten Anteile der OKT 4 positiven T-Helferzellen. Dagegen weist die Gruppe D signifikant erniedrigte Anteile der gesamten T-Zellen und der T-Suppressor-/T-Effektorzellen, relativ wie absolut, sowohl den Kontrollen als auch der Gruppe C gegenüber. Während das OKT 4/8 Verhältnis der Gruppe D im Bereich der Norm liegt, weist die Gruppe C eine erniedrigte OKT 4/8 Ratio auf.

Aus den oben dargelegten Untersuchungsergebnissen geht hervor, daß sowohl die Gruppe C als auch die Gruppe D eine erniedrigte Suppressorzellaktivität aufweisen, ein Befund der für autoaggressive Prozesse charakteristisch ist und wahrscheinlich in der Pathogenese von Autoaggressionskrankheiten eine zentrale Rolle spielt. Allerdings ist die experimen-

mentelle Methode - der Concanavalin-A-Assay - , mit der diese Ergebnisse gewonnen wurden, in letzter Zeit umstritten. Die unterschiedliche Lymphozytenreaktivität auf mitogenen und antigenen Reiz, läßt sich mit der unterschiedlichen Thrombozytenkinetik der beiden Gruppen sehr gut in Einklang bringen. Denn es ist gut vorstellbar, daß diejenige Gruppe mit der niedrigeren Lymphozytenreaktivität in der Zeiteinheit weniger thrombozytotoxische Antikörper produziert als die Gruppe mit höherer Lymphozytenreaktivität, was zu einer verzögerten Antikörperbildung und damit langsamerem Thrombozytenabbau führen würde. Diese Theorie trifft auf die zwei ITP-Untergruppen eindeutig zu, denn die Schnellabbauer (Thrombozytenüberlebenszeit bis 2 Tage) der Gruppe C besitzen eine weit höhere Lymphozytenreaktivität als die Langsamabbauer (Thrombozytenüberlebenszeit 3 - 7 Tage) der Gruppe D. Die bei beiden Gruppen vorhandene Erniedrigung der Gesamtlymphozytenzahl und des T-Helferzellkompartiments, relativ wie absolut, würde gut in die Theorie des Kompensationsversuchs des Organismus passen, um auf diese Weise die durch erniedrigte Suppressorzellaktivität begünstigte überschießende B-Zellproliferation und Antikörperproduktion zu bremsen. Im Fall der Langsamabbauer (Gruppe D) wäre dieser hypothetische Kompensationsversuch entweder erfolgreicher oder nur weiter fortgeschritten als bei den Schnellabbauern (Gruppe C). Der günstigere klinische Verlauf der Langsamabbauer (4, 110) hätte dann ein immunfunktionelles Korrelat.

Festzuhalten bleibt, daß sich das ITP-Gesamtkollektiv aufgrund der Thrombozytenüberlebenszeit in zwei Gruppen gliedern läßt, die sich auch immunfunktionell voneinander eindeutig abgrenzen lassen und womöglich unterschiedliche Stadien oder Verlaufsformen der Immunthrombozytopenie darstellen dürften.

4. ERGEBNISTEIL 2 - CLUSTERANALYSE

4.1. STATISTISCHE METHODEN

Während im Ergebnisteil 1 ausschließlich ein konventionelles statistisches Verfahren, der T-Test für unverbundene Stichproben ungleicher Varianz, zur Anwendung kam, liegt dem Ergebnisteil 2 eine sogenannte Multivarianz- oder Clusteranalyse zugrunde, die an der University of California konzipiert, im Verlauf mathematisch-experimentell verbessert und weiterentwickelt wurde (BMDP2M-Cluster Analysis of Cases, BMDP Statistical Software Inc., 1964 Westwood Blvd Suite 202 (213) 4755700; Program revised April 1982 - Manual revised 1981; Copyright (C) 1982 Regents of University of California).

In diese Clusteranalyse der University of California gingen unsere als Kontrollen dienenden Normalprobanden ($n = 88$) samt allen ihren immunfunktionellen Parametern ein. Die Frage war, ob sich innerhalb des Gesamtprobandenkollektivs Gruppen finden lassen würden, die bezüglich einer vorgegebenen Menge von Merkmalen als ähnlich angesehen werden können und bezüglich dieser Merkmale sich von anderen Gruppen unterscheiden. Dabei gingen die immunologischen Merkmale eines jeden Probanden nicht nach hierarchischen Kriterien, sondern gleichwertig in die Clusteranalyse ein.

Um zu überprüfen inwieweit so ermittelte Probandengruppen statistisch signifikant sich voneinander unterscheiden, wurden als Diskriminanzanalysen der F-Test und der bereits im Ergebnisteil 1 angewandte T-Test gerechnet. Eine statistische Signifikanz wurde bei F-Werten > 4 und entsprechenden p-Werten $< 0,05$ angenommen.

Die mathematischen Auswertungen wurden am Institut für Biometrie der Medizinischen Hochschule Hannover bei Professor Dr. B. Schneider vorgenommen.

4.2. KONTROLLEN

4.2.1. Ergebnisse

Die 88 Normalprobanden erwiesen sich in der Clusteranalyse als immunfunktionell uneinheitliches Kollektiv und zerfielen in drei Gruppen, die hinsichtlich ihres lymphozytären Proliferationsverhaltens auf mitogene und antigene Stimulation in sich einheitlich, untereinander jedoch signifikant different verhalten. Die Gruppe 1 besteht aus 18 Probanden, die eine mittelhohe Lymphozytenreaktivität aufweisen (Mittelhochreagenten), die Gruppe 2 aus 49 Niedrigreagenten und schließlich die Gruppe 3 aus 21 Hochreagenten (Tabellen 27 und 28).

Daraus geht hervor, daß die größten Unterschiede im lymphozytären Reaktionsverhalten zwischen den Gruppen 2 und 3 bzw. Niedrig- und Hochreagenten bestehen. So reagieren die Probanden der Gruppe 2 in allen Mitogen- und Antigen-testsystemen signifikant niedriger als die der Gruppe 3 ($p < 0,03 - 0,0005$). Weiterhin reagiert die Gruppe 2 in 10 von 14 getesteten Systemen signifikant niedriger als die Gruppe 1 ($p < 0,05 - 0,0005$), in den übrigen 4 Antigen-testsystemen Varidase, Tuberkulin GT 1, Tuberkulin GT 10 und Rötelnantigen unterscheiden sich beide Gruppen nicht signifikant. Lymphozyten der Probanden der Gruppe 1 reagieren, die Testsysteme Protein A, Concanavalin A (12,5 μ g) und Tetanustoxoid ausgenommen, signifikant niedriger als die Lymphozyten der Hochreagentengruppe 3 ($p < 0,05 - 0,0005$), im Concan-

valin A System (25 μ g) sogar signifikant höher ($p < 0,005$). Die Absolutwerte der lymphozytären Reaktivität im Mitogen- und Antigen-system, die Gruppenvergleiche und statistische Signifikanzen finden sich in den Tabellen 27, 28, 29 und 30 und in den Abbildungen 28 mit 41.

Diese drei Cluster der Niedrig- (Gruppe 2), Mittelhoch- (Gruppe 1) und Hochreagenten (Gruppe 3) unterscheiden sich nicht voneinander hinsichtlich der Lymphozytenzahlen und relativen wie absoluten T-Zell- und T-Zellsubfraktionsgrößen sowie der OKT 4/8 Ratio. Gleiches gilt für die im Concanavalin-A-Assay bestimmte Suppressorzellaktivität, deren Aussagefähigkeit durch neuere wissenschaftliche Erkenntnisse in Frage gestellt wird (231). Aus diesem Grund soll für die Aussage der Suppressorzellaktivität auch der Begriff der Concanavalin-A-Blastenaktivität stehen.

Die drei Cluster unterscheiden sich, was das Alter und Geschlecht ihrer Angehörigen betrifft, praktisch nicht:

Alter: Cluster 1: $\bar{x}$ = 30 Jahre; SD = 9 Jahre
 Cluster 2: $\bar{x}$ = 30 Jahre; SD = 9 Jahre
 Cluster 3: $\bar{x}$ = 31 Jahre; SD = 8 Jahre

Geschlecht: Cluster 1: 72% Frauen; 28% Männer
 Cluster 2: 71% Frauen; 29% Männer
 Cluster 3: 62% Frauen; 38% Männer

4.2.2. Diskussion

Die Clusteranalyse zeigt, daß unser großes Normalprobandenkollektiv immunfunktionell uneinheitlich ist und in drei Gruppen mit deutlich unterschiedlicher Lymphozytenreaktivität auf mitogenen und antigenen Reiz zerfällt: eine Grup-

pe (Cluster) von Niedrigreagenten (Cluster 2), eine von Mit-
telhochreagenten (Cluster 1) und eine von Hochreagenten
(Cluster 3). Die Gruppenzugehörigkeit definiert sich nicht
über einzelne Meßgrößen, sondern über die Kongruenz aller
getesteten und zwischen den Clustern differenten Größen, in
diesem Fall über 14 getesteten Parameter (alle Mitogen- und
Antigentestsysteme).

Die unterschiedliche Lymphozytenreaktivität der einzelnen
Cluster auf mitogenen und antigenen Reiz ist somit nicht
Ausdruck ihrer Lymphozytenreaktivität auf ganz bestimmte
Mitogene oder Antigene, sondern vielmehr Ausdruck einer all-
gemeinen Reaktionsbereitschaft dieser Lymphozyten auf pro-
liferativen Reiz. Diese allgemeine Lymphozytenreaktivität
ist bei den drei Clustern ganz unterschiedlich, wobei die
Hochreagentengruppe 3 sich deutlich stärker von den beiden
anderen Gruppen unterscheidet, als diese sich untereinander
unterscheiden.

Da alle drei Kontrollcluster gleiche Gesamtlymphozytenzah-
len und gleiche relative und absolute Anteile von T-Zellen
und T-Zellsubfraktionen, damit auch analoge OKT 4/8 Ver-
hältnisse, an den Lymphozyten des peripheren Blutes aufwei-
sen und deshalb auch gleiche B-Lymphozytenzahlen vorliegen
dürften, müßten diese Lymphozytenreaktivitätsunterschiede
wahrscheinlich funktioneller Natur sein.

Die Ergebnisse der Clusteranalyse ergeben den Hinweis, daß
es schon unter gesunden Personen wenigstens drei Gruppen
geben könnte, die immunfunktionell deutlich different sind.
Diese gesunden Personengruppen könnten dann durchaus als
Risikokollektive für unterschiedliche Erkrankungen in Be-
tracht kommen (55).

4.3. IMMUNTHROMBOZYTOPENIE

4.3.1. Ergebnisse

4.3.1.1. ITP-Gesamtkollektiv

4.3.1.1.1. Mitogen- und Antigenstimulation

Die quantitativen Ergebnisse in den Einzeltestsyste-
men zeigen für das ITP-Gesamtkollektiv die Tabellen 2 und 3, für
die Kontrollcluster die Tabellen 27 und 28.

Die Lymphozytenreaktivität des ITP-Gesamtkollektivs ist ge-
genüber der Hochreagentengruppe (Cluster 3) in 12 der 14
getesteten Mitogen- und Antigen-systemen, außer Protein A
und Concanavalin A (25 µg), signifikant niedriger ($p < 0,05$
- $0,0005$). Dagegen reagieren die Lymphozyten der ITP-Ge-
samtgruppe gegenüber der Niedrigreagentengruppe (Cluster
2) in 11 von 14 Testsystemen, außer Varidase, Rötelnanti-
gen und Antigencocktail, signifikant höher ($p < 0,03$ -
 $0,0005$). Im Vergleich vom ITP-Gesamtkollektiv mit der Mit-
telhochreagentengruppe (Cluster 1) ergibt sich in allen An-
tigensystemen und im Protein A-System gleiche Lymphozyten-
reaktivität. In den verbleibenden 4 Systemen, Concanavalin
A 12,5 und 25 µg, Pokeweed Mitogen und Phytohämagglutinin,
reagieren die Lymphozyten des ITP-Gesamtkollektivs signifi-
kant niedriger als die der Mittelhochreagenten ($p < 0,05$ -
 $0,01$), aber immer noch signifikant höher als die Niedrig-
reagenten ($p < 0,03$ - $0,0005$).

Daraus ist ersichtlich, daß Patienten mit Immunthrombozyto-
penie Mittelhochreagenten sind (Tabelle 37).

4.3.1.1.2. Suppressorzellaktivität

Die quantitativen Ergebnisse in den Einzeltestsystemen zeigen für das ITP-Gesamtkollektiv die Tabelle 4 und für die Kontrollcluster die Tabelle 31.

Die Concanavalin-A-Blastenaktivität des ITP-Gesamtkollektivs ist gegenüber allen drei Clustern in der gemischten Lymphozytenkultur signifikant erniedrigt ($p < 0,0005$), im Phytohämagglutininsystem dagegen kontrollgruppenanalog. Während sie im Protein A- und Pokeweed Mitogen-System verglichen mit dem Mittelhochreagentencluster 1 nicht signifikant erniedrigt ist, ist dies gegenüber dem Niedrigreagentencluster 2 in beiden Testsystemen ($p < 0,05 - 0,005$), gegenüber dem Hochreagentencluster 3 nur im Pokeweed Mitogen-System ($p < 0,0005$) der Fall (Tabelle 38).

4.3.1.1.3. T-Zellsubfraktionen

Die quantitativen Einzelergebnisse für das ITP-Gesamtkollektiv finden sich in den Tabellen 5 und 6, für die drei Kontrollcluster in den Tabellen 33 und 35.

Die Lymphozytenzahlen im peripheren Blut, wie sowohl die relativen als auch die absoluten Anteile der T-Zellen gesamt, der T-Helferzellen und der T-Suppressor/T-Effektorzellen des ITP-Gesamtkollektivs sind gegenüber allen drei Clustern signifikant erniedrigt ($p < 0,05 - 0,0005$). Auch das OKT 4/8 Verhältnis ist gegenüber den Clustern 1 und 2 ebenfalls signifikant erniedrigt ($p < 0,05 - 0,01$), lediglich gegenüber dem Cluster 3 ist kein signifikanter Unterschied feststellbar (Tabellen 39 und 40).

4.3.1.2. ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber)

4.3.1.2.1. Mitogen- und Antigenstimulation

Die quantitativen Ergebnisse in den Einzeltestsystemen sind für die Gruppe A und die Gruppe B in den Tabellen 7 und 8, für die drei Kontrollcluster in den Tabellen 27 und 28 dargestellt.

Die ITP-Untergruppe A besitzt gegenüber dem Hochreagentencluster 3 in 11 von 14 getesteten Systemen, außer Protein A, Concanavalin A (25 µg) und Tetanustoxoid, eine signifikant niedrigere Lymphozytenreaktivität ($p < 0,05 - 0,0005$). Genau gegensätzlich fällt der Vergleich mit dem Niedrigreagentencluster 2 aus: hier ist die Lymphozytenreaktivität der Gruppe A gegenüber diesem Cluster in 11 von 14 Systemen, außer Varidase, Rötelnantigen und Antigencocktail, statistisch signifikant höher ($p < 0,03 - 0,001$). Die Gruppe A verhält sich, wie schon das ITP-Gesamtkollektiv, gegenüber dem Mittelhochreagentencluster 1 analog, mit Ausnahme der beiden Concanavalin A-Systemen (12,5 und 25 µg), wo sie eine signifikant niedrigere Lymphozytenreaktivität besitzt ($p < 0,03 - 0,01$), aber in diesen zwei Systemen wiederum signifikant höher reagiert als die Niedrigreagentengruppe ($p < 0,005 - 0,001$). Somit sind die Angehörigen der Gruppe A (Hauptabbauort Milz), wie schon diejenigen des ITP-Gesamtkollektivs, Mittelhochreagenten (Tabelle 41).

Die ITP-Untergruppe B besitzt gegenüber der Hochreagentengruppe 3 eine signifikant erniedrigte Lymphozytenreaktivität, außer in den Mitogensystemen Protein A und Concanavalin A 25 µg ($p < 0,05 - 0,0005$). Gegenüber der Mittelhochreagentengruppe 1 ist ihre Lymphozytenreaktivität in 6 aus

14 Testsystemen signifikant niedriger ($p < 0,05 - 0,005$). Sie bleibt aber in 4 dieser 6 Testsysteme, dem Concanavalin A (12,5 und 25 μg), Pokeweed Mitogen und Antigencocktail, signifikant höher als die der Niedrigreagentengruppe 2 ($p < 0,05 - 0,005$). In weiteren 7 Testsystemen - Varidase, Diphtherietoxoid, Tuberkulin GT 1, Tuberkulin GT 10, Masern-, Vaccinia- und Rötelnantigen - unterscheidet sich die Lymphozytenreaktivität der Gruppe B weder vom Cluster 1 noch vom Cluster 2. Eine eindeutige Zuordnung der ITP-Untergruppe B zu einem Kontrollcluster ist nicht möglich, sie ist lediglich dem Cluster 1 (Mittelhochreagenten) ähnlicher als dem Cluster 2 (Niedrigreagenten), (Tabelle 42).

4.3.1.2.2. Suppressorzellaktivität

Die quantitativen Ergebnisse in den Einzelsystemen zeigt für die Gruppe A (Hauptabbauort Milz) und die Gruppe B (Hauptabbauort Leber) die Tabelle 9, für die Kontrollcluster die Tabelle 31.

Beide Gruppen zeigen gegenüber allen drei Kontrollclustern eine signifikant erniedrigte Concanavalin-A-Blastenaktivität in der gemischten Lymphozytenkultur (MLC) ($p < 0,001 - 0,0005$). Im Phytohämagglutininssystem zeigt die Gruppe A gegenüber dem Cluster 1 eine erniedrigte Suppressorzellaktivität (Concanavalin-A-Blastenaktivität) ($p < 0,05$), ansonsten ist die Concanavalin-A-Blastenaktivität der beiden Gruppen in diesem Testsystem der der Kontrollcluster analog. Im Protein A-System zeigen beide Gruppen gegenüber dem Cluster 2 eine erniedrigte Concanavalin-A-Blastenaktivität ($p < 0,05 - 0,005$). Im Pokeweed Mitogen-System ist die Concanavalin-A-Blastenaktivität der Gruppe A gegenüber den Clustern 2 und 3, die der Gruppe B jedoch nur gegenüber dem Cluster 3, signifikant erniedrigt ($p < 0,05 - 0,0005$). (Tabellen 43 und 44).

4.3.1.2.3. T-Zellsubfraktionen

Die quantitativen Ergebnisse für die ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber) zeigen die Tabellen 10 und 11, für die Kontrollcluster die Tabellen 33 und 35.

Die Gruppe A zeigt gegenüber den drei Kontrollclustern statistisch signifikant erniedrigte relative Anteile der T-Zellen gesamt, T-Helferzellen und T-Suppressor-/Effektorzellen ($p < 0,01 - 0,0005$) und ein kontrollgruppenanaloges OKT 4/8 Verhältnis. Die Gruppe B zeigt dagegen gegenüber den drei Clustern signifikant erniedrigte relative T-Zell- und T-Helferzellanteile ($p < 0,05 - 0,0005$), aber analoge T-Suppressor-/Effektorzellanteile an den Lymphozyten des peripheren Blutes. Aufgrund dieser Veränderung ist das OKT 4/8 Verhältnis gegenüber den drei Kontrollclustern signifikant erniedrigt ($p < 0,0005$), (Tabellen 45 und 46).

Was die absoluten Lymphozyten-, T-Zell-, T-Helferzell- und T-Suppressor-/Effektorzellanteile des peripheren Blutes betrifft, so sind sie bei den ITP-Untergruppen A und B gegenüber allen drei Normalprobandenclustern statistisch signifikant erniedrigt ($p < 0,03 - 0,0005$). Siehe dazu die Tabellen 47 und 48.

Die beiden thrombozytenkinetisch differenten ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber) lassen sich, was schon im direkten Vergleich aufgrund der geringen Unterschiede kaum anders zu erwarten war, durch die vergleichende Betrachtungsweise der Clusteranalyse auch nicht als immunfunktionell differente ITP-Untergruppen charakterisieren.

4.3.1.3. ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 2 Tage) und D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

4.3.1.3.1. Mitogen- und Antigenstimulation

Die quantitativen Ergebnisse in den Einzeltestsystemen sind für die Gruppen C und D in den Tabellen 17 und 18, für die drei Kontrollcluster in den Tabellen 27 und 28.

Die Lymphozytenreaktivität der Gruppe C ist gegenüber dem Hochreagentencluster 3 in 11 von 14 getesteten Systemen, außer Protein A, Concanavalin A (25 µg) und Tetanustoxoid, signifikant niedriger ($p < 0,05 - 0,0005$). Umgekehrt ist sie aber gegenüber dem Niedrigreagentencluster 2 in 11 von 14 Systemen signifikant höher ($p < 0,05 - 0,0005$), außer Varidase, Rötelnantigen und Antigencocktail. Die Gruppe C entspricht im wesentlichen dem Mittelhochreagentencluster 1, von dem sie sich nur in einem Testsystem (Concanavalin A 25 µg) signifikant unterscheidet ($p < 0,05$), (Tabelle 49).

Die Reaktivität der Lymphozyten der Gruppe D ist gegenüber der des Hochreagentenclusters 3 in 13 von 14 Systemen, außer Tuberkulin GT 1, signifikant niedriger ($p < 0,05 - 0,0005$), gegenüber der des Mittelhochreagentenclusters 1 in 7 der 14 getesteten Systemen signifikant niedriger ($p < 0,05 - 0,0005$). Die Lymphozytenreaktivität der Gruppe D entspricht im wesentlichen der des Niedrigreagentenclusters 2, von der sie sich nur in einem einzigen Testsystem, dem Antigencocktail, unterscheidet und hier sogar signifikant noch niedriger ist als die des Niedrigreagentenclusters 2 ($p < 0,01$), (Tabelle 50).

Da diese Unterschiede zwischen der Gruppe C und Gruppe D bereits beim direkten Vergleich aufgezeigt wurden, bestä-

tigt die Clusteranalyse die immunfunktionelle Differenz dieser beiden ITP-Untergruppen. Demnach besteht die Gruppe C aus Mittelhoch-, die Gruppe D aber aus Niedrigreagenten.

4.3.1.3.2. Suppressorzellaktivität

Die quantitativen Ergebnisse der einzelnen Testsysteme zeigen für die Gruppen C und D die Tabelle 19, für die drei Kontrollcluster die Tabelle 31.

Im Vergleich mit den drei Kontrollclustern zeigen beide ITP-Untergruppen im Phytohämagglutininsystem kontrollgruppenanaloge Concanavalin-A-Blastenaktivität, dagegen in der gemischten Lymphozytenkultur, mit Ausnahme der Gruppe D gegenüber dem Cluster 2, ist sie signifikant erniedrigt ($p < 0,03 - 0,0005$). Im Pokeweed Mitogen-System ist die Concanavalin-A-Blastenaktivität der Gruppe C gegenüber der Cluster 2 und 3, die der Gruppe D nur gegenüber der Cluster 3, signifikant erniedrigt ($p < 0,05 - 0,005$). Im Protein A-System ist die Concanavalin-A-Blastenaktivität der Gruppe D gegenüber allen drei Clustern signifikant erniedrigt, die der Gruppe C nur gegenüber dem Cluster 2 ($p < 0,05 - 0,005$), (Tabellen 51 und 52).

4.3.1.3.3. T-Zellsubfraktionen

Die quantitativen Ergebnisse in den einzelnen Testsystemen zeigen für die Gruppen C und D die Tabellen 20 und 21, für die Kontrollcluster die Tabellen 33 und 35.

Bei der Gruppe C ist der relative Anteil der Gesamt-T-Zell- und T-Helferzellzahl gegenüber den drei Kontrollclustern signifikant erniedrigt ($p < 0,03 - 0,0005$), dagegen ist der

relative T-Suppressor-/T-Effektorzellzahlanteil kontrollgruppenanalog. Ihr OKT 4/8 Verhältnis ist gegenüber Cluster 1 und Cluster 2 signifikant erniedrigt ($p \leq 0,05 - 0,03$). Bei der Gruppe D ist der prozentuale Anteil der T-Zellen gesamt, T-Helferzellen und T-Suppressor-/T-Effektorzellen an den Blutlymphozyten gegenüber den drei Kontrollclustern signifikant erniedrigt ($p \leq 0,005 - 0,0005$). Deshalb ist ihr OKT 4/8 Verhältnis gegenüber allen drei Clustern analog (Tabellen 53 und 54). Was die absoluten Anteile der T-Zellen gesamt, T-Helferzellen und T-Suppressor-/T-Effektorzellen sowie die absoluten Lymphozytenzahlen des peripheren Blutes betrifft, sind diese Größen sowohl bei der Gruppe C als auch bei der Gruppe D gegenüber den drei Normalprobandenclustern signifikant erniedrigt ($p < 0,01 - 0,0005$; Tabellen 55 und 56).

4.3.2. Diskussion

Beim Vergleich des ITP-Gesamtkollektivs mit den drei Kontrollclustern entspricht die Lymphozytenreaktivität des ITP-Gesamtkollektivs der des Mittelhochreagentenclusters 1. Das ITP-Gesamtkollektiv unterscheidet sich vom Cluster 1 durch erniedrigte Concanavalin-A-Blastenaktivität und erniedrigte Lymphozytenzahlen sowie relativ und absolut erniedrigte T-Zell- und T-Zellsubfraktionsgrößen und eine erniedrigte OKT 4/8 Ratio.

Bei der ITP-Untergruppe A (Hauptabbauort Milz) entspricht die Lymphozytenreaktivität ebenfalls der des Mittelhochreagentenclusters 1. Die ITP-Untergruppe B (Hauptabbauort Leber) läßt sich, die Lymphozytenreaktivität betreffend, am ehesten auch dem Mittelhochreagentencluster 1 zuordnen. Daraus geht hervor, daß die ITP-Untergruppen A und B sich dem ITP-Gesamtkollektiv analog verhalten. Dies trifft weiterhin

für die erniedrigte Concanavalin-A-Blastenaktivität und für die lymphozytären Verhältnisse im peripheren Blut zu, wobei sich beide Gruppen A und B in nahezu dem ITP-Gesamtkollektiv analoger Weise vom Kontrollcluster 1 unterscheiden. Wie bereits im direkten Vergleich aufgrund der fehlenden Unterschiede es nicht gelang die Gruppen A und B als immunfunktionell unterschiedliche ITP-Untergruppen zu identifizieren, gelingt es über die Clusteranalyse auch nicht sie als immunfunktionell different zu charakterisieren.

Ganz anders ist dies bei den ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 2 Tage) und D (Abbauzeit 3 - 7 Tage), die primär aufgrund ihrer Thrombozytenüberlebenszeit gegeneinander abgegrenzt wurden. Das durfte bereits anhand des direkten Vergleichs der Gruppen C und D erwartet werden, da die Gruppe D eine signifikant niedrigere Lymphozytenreaktivität gegenüber der Gruppe C zeigte. In der Tat entspricht in der Clusteranalyse die Lymphozytenreaktivität der Gruppe D der des Niedrigreagentenclusters 2 und die der Gruppe C der des Mittelhochreagentenclusters 1. Die ITP-Untergruppen C und D sind somit auch anhand der Ergebnisse der Clusteranalyse immunfunktionell different.

Sie unterscheiden sich von diesen beiden Clustern, die Gruppe D vom Niedrigreagentencluster 2 und die Gruppe C vom Mittelhochreagentencluster 1, durch erniedrigte Concanavalin-A-Blastenaktivität, erniedrigte Blutlymphozytenzahlen und sowohl relativ wie absolut erniedrigte T-Zell- und T-Helferzellkompartimente im peripheren Blut. Während die Gruppe C einen prozentual normalen T-Suppressor-/T-Effektorzellanteil und eine erniedrigte OKT 4/8 Ratio aufweist, besitzt die Gruppe D ein kontrollgruppenanaloges OKT 4/8 Verhältnis, da ihre T-Suppressor-/T-Effektorzellanteile sowohl relativ als auch absolut erniedrigt sind. Im direkten Vergleich ist sowohl der prozentuale wie abso-

lute Anteil der T-Suppressor-/T-Effektorzellen an den Lymphozyten des peripheren Blutes der Gruppe D gegenüber der Gruppe C signifikant niedriger.

Das ITP-Gesamtkollektiv zerfällt in zwei immunfunktionell differente Untergruppen, die gleichzeitig die Thrombozytenüberlebenszeit betreffend ebenfalls gegeneinander abgrenzbar sind. Somit kommen möglicherweise immunfunktionell unterschiedliche Gruppen gesunder Probanden als Risikokollektive für die Erkrankung in Betracht, so die Niedrigreagenten (Cluster 2) für die ITP-Untergruppe D (Langsamabbauer) und die Mittelhochreagenten (Cluster 1) für die ITP-Untergruppe C (Schnellabbauer).

Immunfunktionell betrachtet könnte die günstigere Prognose der Langsamabbauer (Gruppe D) durch ihre grundsätzlich niedrigere Lymphozytenreaktivität erklärt werden, da bei einer niedrigen Proliferationsbereitschaft der Lymphozyten auch bei einem ablaufenden autoaggressiven Prozeß höchstwahrscheinlich weniger thrombozytotoxische Autoantikörper produziert werden als bei höherer Proliferationsbereitschaft. Die niedrigen Lymphozytenzahlen bei Patienten mit Immunthrombozytopenie könnten als möglicher Kompensationsversuch des Organismus gedeutet werden, der die überschüssige Lymphozytenproliferation durch Verminderung der Lymphozytenzahl zu limitieren versucht.

5. ZUSAMMENFASSENDE DISKUSSION DER ERGEBNISTEILE 1 UND 2

Hier müssen wir zunächst selbstkritisch die Anmerkung machen, daß wir alle Untersuchungen an Blutlymphozyten durchgeführt haben, das heißt an einem kleinen Teil des lymphatischen Systems. Diese Tatsache könnte die Aussagefähigkeit der Experimente unter Umständen einschränken und stellt ein allgemeines Problem aller immunologischen Untersuchungen am Menschen dar. Dagegen steht, daß die Blutlymphozyten als ein allgemein brauchbares Modell für immunologische Experimente im Humansystem gelten (125). Bei allen durchgeführten Untersuchungen handelt es sich um in vitro Ansätze, deren Ergebnisse wahrscheinlich nur mit Vorbehalt auf die Verhältnisse in vivo übertragbar sind. Genauso problematisch, wenn nicht noch problematischer gestaltet sich die Übertragung von im Tierexperiment in vivo gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen. So bleibt man weiterhin auf die Lymphozytenkultur angewiesen, die wahrscheinlich das brauchbarste in vitro Modell immunologischer Vorgänge beim Menschen darstellt (21, 125). Eine weitere Einschränkung gilt für die im Concanavalin-A-Assay bestimmte Suppressorzellaktivität, da nach neueren Untersuchungen die biologische Wertigkeit des Concanavalin-A-Assays stark bezweifelt wird: es stellt sich die Frage, ob in diesem Assay überhaupt Suppressorzellaktivität gemessen wird? (231). Diese Einschränkungen vorausgesetzt, haben wir versucht die Immunthrombozytopenie durch systematische immunologische Untersuchungen in vitro immunfunktionell zu charakterisieren. Unter gleichen Bedingungen wurden die Untersuchungen am großen Normalprobandenkollektiv durchgeführt.

Es ist gelungen die gesunden Normalprobanden aufgrund ihrer immunfunktionellen Befunde in der Clusteranalyse zu charakterisieren, was zum erstaunlichen Ergebnis führte, daß es bereits unter Gesunden wenigstens drei Gruppen mit grund-

sätzlich unterschiedlicher Lymphozytenreaktivität auf mitogenen und antigenen Reiz gibt: es sind die Niedrig-, Mittelhoch- und Hochreagentengruppen. Ihre Angehörigen sind sich untereinander in hohem Maße ähnlich, während sie sich von den Angehörigen der anderen Gruppen (Cluster) stark unterscheiden. Diese Unterschiede müßten funktioneller Natur sein, da die Angehörigen aller drei Cluster gleiche Lymphozytenverhältnisse im peripheren Blut und gleiche Concanavalin-A-Blastenaktivität aufweisen. Diese unterschiedliche Lymphozytenreaktivität der drei Kontrollcluster dürfte nicht Ausdruck der Reaktionsbereitschaft auf bestimmte Mitogene oder Antigene, sondern vielmehr Ausdruck der Reaktionsbereitschaft des Immunsystems auf proliferativen Reiz im allgemeinen sein. Solche immunreaktiv eindeutig differenten Gruppen gesunder Menschen kommen durchaus als Risikokollektive für unterschiedliche Erkrankungen in Betracht.

Patienten mit Immunthrombozytopenie konnten wir durch niedrige Concanavalin-A-Blastenaktivität, erniedrigte Blutlymphozytenzahlen und erniedrigte, prozentuale wie absolute, T-Zell-, T-Helfer- und T-Suppressor-/T-Effektorzellanteile, sowie ein erniedrigtes OKT 4/8 Verhältnis charakterisieren. Die Lymphozytenreaktivität war der des heterogenen Kontrollkollektivs analog. Weiter gelang es uns, zwei thrombozytenkinetisch differente ITP-Untergruppen, die Schnellabbauer (Gruppe C, Thrombozytenüberlebenszeit bis 2 Tage) und Langsamabbauer (Gruppe D, Thrombozytenüberlebenszeit 3 - 7 Tage), als immunfunktionell different zu verifizieren, wobei die Schnellabbauer eine dem ITP-Gesamtkollektiv analoge, die Langsamabbauer sowohl gegenüber dem ITP-Gesamtkollektiv als auch im direkten Vergleich mit den Schnellabbauern signifikant erniedrigte Lymphozytenreaktivität zeigen. Dies steht im Einklang mit der Thrombozytenkinetik beider Gruppen, da eine erniedrigte Lymphozytenreaktivität über eine verminderte Produktion thrombozytotoxischer Antikörper zu

einem verzögerten Thrombozytenabbau führen dürfte, wie dies wohl bei den Langsamabbauern (Gruppe D) der Fall ist und umgekehrt auf die Schnellabbauer (Gruppe C) zutrifft. Die bessere Prognose der Langsamabbauer stützt sich auf diese Zusammenhänge der niedrigeren Lymphozytenreaktivität. Deshalb sollten diese ITP-Patienten eher einer immunsuppressiven Chemotherapie als einer immerhin mit Komplikationen behafteten Milzextirpation zugeführt werden. Diese unterschiedliche Lymphozytenreaktivität der Schnell- und Langsamabbauer wird mit Hilfe der Clusteranalyse nochmals unterstrichen, da die Schnellabbauer Mittelhochreagenten (Cluster 1), die Langsamabbauer dagegen Niedrigreagenten (Cluster 2) sind. Somit stellen die entsprechenden Cluster, die ja aus gesunden Normalprobanden bestehen, das Reservoir der Risikokollektive für die unterschiedlichen ITP-Untergruppen dar, die sowohl thrombozytenkinetisch als auch immunfunktionell different sind. Es kommen also für die zwei unterschiedlichen Verlaufsformen der Immunthrombozytopenie auch unterschiedliche Risikokollektive gesunder Menschen in Betracht und zwar gesunde Mittelhochreagenten für die Verlaufsform mit Thrombozytenüberlebenszeiten bis 2 Tage, dagegen gesunde Niedrigreagenten für die Verlaufsform mit Thrombozytenüberlebenszeiten zwischen 3 - 7 Tagen. Allen ITP-Patienten ist dagegen gemeinsam, daß sie periphere Lymphozytenzahlen, sowie auch Gesamt-T-Zell-, T-Helferzell- und T-Suppressor-/T-Effektorzellzahlen an den Blutlymphozyten aufweisen, die gegenüber den gesunden Kontrollprobanden signifikant erniedrigt sind. Ebenso verfügen sie über eine gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigte Concanavalin-A-Blastenaktivität.

Nun wird die Immunthrombozytopenie zu den Autoaggressionskrankheiten zugeordnet, wobei die vermehrt produzierten thrombozytotoxischen Antikörper pathophysiologisch eine wichtige Rolle spielen. Die Erniedrigung der absoluten Zah-

len der peripheren Lymphozyten und der T-Zellen mit den T-Zellsubfraktionen bei Patienten mit Immunthrombozytopenie ist möglicherweise ein Kompensationsversuch des Organismus um die überschießende Lymphozytenreaktivität und Autoantikörperbildung durch Verminderung der Lymphozytenzahl in ihrem Effekt zu begrenzen. Das würde bedeuten, daß dieser Kompensationsversuch bei den Langsamabbauern (Patienten mit Thrombozytenüberlebenszeiten von 3 - 7 Tagen) entweder erfolgreicher oder nur weiter fortgeschritten wäre im Gegensatz zu den Schnellabbauern (Patienten mit Thrombozytenüberlebenszeiten bis zu 2 Tagen).

Die dargestellte immunologische Charakterisierung der Immunthrombozytopenie dürfte nicht nur zur besseren diagnostischen Eingrenzung dieses bislang letztlich aufgrund klinischer Ausschlußdiagnosen definierten Krankheitsbildes beitragen. Sie dürfte auch Aussagen über die Prognose und notwendigen therapeutischen Maßnahmen ermöglichen, aber auch nicht zuletzt zum besseren Verständnis der Pathogenese und der Pathophysiologie der Immunthrombozytopenie einige Erkenntnisse beisteuern.

6. IMMUNGENETISCHER ANHANG

6.1. EINLEITUNG

6.1.1. Das HLA-System des Menschen

Das System der HLA-Merkmale trat in den Vordergrund des wissenschaftlichen Interesses, als die Transplantation von körperfremden Organen in die klinische Therapie aufgenommen wurde. Deshalb wurden die HLA-Antigene zunächst als "Transplantationsantigene" bezeichnet. Die Grundlage für die Transplantationsimmunologie bildeten die bahnbrechenden tierexperimentellen Untersuchungen von Medawar in den vierziger Jahren dieses Jahrhunderts. Seit damals war bekannt, daß immunologische Vorgänge für die Transplantatabstoßung verantwortlich sind und daß die vom Empfänger als fremd erkannten Antigenstrukturen auch auf anderen kernhaltigen Zellen wie den Leukozyten vorkommen (106, 135).

Den Anfang der Erforschung des menschlichen HLA-Systems bildete im Jahre 1954 die Beobachtung von Dausset, daß das Serum von polytransfundierte Personen Antikörper enthielten, die Leukozyten anderer Personen zu agglutinieren vermochten. Bald darauf definierte er das erste Antigen auf Lymphozyten, daher die heutige Bezeichnung "human leucocyte antigen" (HLA). Er bezeichnete es als Mac (heute HLA-A 2). Damit war das erste HLA-Antigen des Menschen beschrieben (33, 34).

Bald darauf konnten van Rood sowie Payne und Rolfs, unabhängig voneinander, in Serum von schwangeren Frauen Antikörper nachweisen, die Leukozyten des Ehemannes, aber auch anderer nichtverwandter Personen agglutinierten. Sie ver-

muteten richtig, daß die Mutter durch übergetretene fötale Lymphozyten gegen die Lymphozytenantigene des Vaters immunisiert worden war. Die meisten Schwangerenserum waren jedoch nicht monospezifisch, sondern enthielten komplexe Antikörpergemische. Dies galt als erster Hinweis auf zahlreiche Lymphozytenantigene beim Menschen, was in der Folge durch die Entdeckung monospezifischer, nur gegen eine HLA-Determinante gerichteter Antikörper bestätigt wurde (156, 176, 189, 190).

Die Erkenntnis, daß HLA-Antiseren nicht nur agglutinierende, sondern auch zytotoxische Eigenschaften besitzen, war der Ausgangspunkt zur Erarbeitung von Mikrolymphotoxizitätstests für die Bestimmung des HLA-Musters (115, 208).

Diese auf fast allen Körperzellen, außer den Erythrozyten, vorhandenen Antigene sind auch auf Thrombozyten und in haploider Form auf Spermien nachweisbar (64, 89). Sie werden heute als Histokompatibilitätsantigene oder HLA-Antigene, früher Transplantationsantigene, bezeichnet. Sie sind Produkte der HLA-Gene, die innerhalb des Haupthistokompatibilitätskomplexes (englisch: major histocompatibility complex; MHC) auf dem kurzen Arm des Chromosoms Nr. 6 lokalisiert sind (69, 122, 131). Diese Genregion hat bei allen Wirbeltieren wie Knochenfisch, schwanzlosen Amphibien, Vögeln und Säugern einen ähnlichen, evolutionsmäßig erklärbaren Aufbau. Bei der Ratte wird dieser Genkomplex als H-1-Komplex, bei der Maus als H-2-Komplex bezeichnet (12, 13, 127, 145).

Bisher wurden weit über hundert HLA-Antigenspezifitäten definiert, die von mindestens fünf Genorten des Haupthistokompatibilitätskomplexes kodiert werden. Diese fünf Genloci sind folgende: HLA-A, HLA-B, HLA-Cw, HLA-D und/oder HLA-DR. Ob die letzten zwei Genorte doch nicht identisch sind, ist zur Zeit noch unter den Fachleuten umstritten (12).

Die Genprodukte der HLA-A, HLA-B und HLA-Cw Gene werden aufgrund zahlreicher Gemeinsamkeiten als Klasse-I-Antigene bezeichnet (117). Ihre wichtigste Funktion ist die Definition der sogenannten "selbst-Eigenschaften" des Organismus, was von großer Bedeutung ist, da das Immunsystem Strukturen nur dann als fremd erkennen kann, wenn vorher definiert ist was körpereigen ist (36). Die Erkennung dieser "selbst-Eigenschaften" ist wiederum für bestimmte immunologische Vorgänge wichtig. So ist die Zellyse einer virusinfizierten Körperzelle durch zytotoxische T-Zellen nur dann möglich, wenn beide Zellen die gleichen Klasse-I-Antigene besitzen. Dieses Phänomen wird als HLA-Restriktion der Zellyse bezeichnet (42, 134, 146).

In der gemischten Lymphozytenkultur (MLC) stimulieren sich die Lymphozyten HLA-identischer Geschwister in der Regel nicht, wohl aber die Lymphozyten von HLA-differenten Geschwistern. Dagegen sind Stimulationen zwischen Lymphozyten HLA-identischer aber nicht verwandter Personen in der MLC keine Seltenheit (5, 116, 138, 139, 185, 186, 193). Als nachgewiesen werden konnte, daß in bestimmten Ausnahmefamilien in der MLC die Lymphozyten von HLA-identischen Geschwistern sich stimulierten, diejenigen HLA-differenter Geschwister aber nicht, stand fest, daß die MLC-Eigenschaften der Lymphozyten nicht durch die klassischen HLA-Gene (A, B und C), sondern durch ein eigenes, diesen allerdings eng gekoppeltes HLA-D-Gen des Haupthistokompatibilitätskomplexes kodiert werden (2, 137).

Die HLA-D- und HLA-DR-Gene, letztere noch nicht endgültig als eigenständig anerkannt, kodieren die entsprechenden Antigene, die aufgrund biochemischer Unterschiede den klassischen HLA-Antigenen als Klasse-II-Antigene gegenübergestellt werden (119, 201, 223, 229). Im Gegensatz zu den Klasse-I-Antigenen, die praktisch auf allen kernhaltigen

Zellen vorkommen, findet man die Klasse-II-Antigene nur auf B-Lymphozyten, Monozyten, Epithelialzellen und Langerhans-Zellen (194). Die wahrscheinlich wichtigste Aufgabe der Klasse-II-Antigene besteht in der Koordinierung des Ablaufs einer Immunantwort. Am Anfang steht die Präsentation des antigenen Materials durch Makrophagen an die T-Helferzellen, weiterhin die Proliferation der B-Zellen zu Plasmazellen mit nachfolgender Antikörpersynthese, die wiederum von T-Suppressorzellen gehemmt wird. Diese Immunzellkooperationen gelingen nur zwischen Zellen mit gleichen Klasse-II-Antigenen. Dieses Phänomen wird als HLA-Restriktion der Immunantwort bezeichnet (11, 145).

Der jetzige Wissensstand über das Haupthistokompatibilitätskomplex und seine Gene ist sicherlich nur eine Momentaufnahme, da die Immungenetik sich in einer stetigen Weiterentwicklung befindet. Jahr für Jahr werden neue Antigen-spezifitäten entdeckt und im Rahmen von HLA-Symposien teilweise recht kontrovers diskutiert.

6.2. FRAGESTELLUNG

Seit den siebziger Jahren wurden verschiedene Krankheiten, vor allem aus dem immunologischen Bereich, mit bestimmten Histokompatibilitätsantigenen in Verbindung gebracht. Der genaue Zusammenhang zwischen bestimmten HLA-Antigenen und Krankheiten ist bislang unklar. Einige Assoziationen sind mittlerweile unbestritten, andere werden wiederum eher zurückhaltend beurteilt. Hier einige "gesicherte" Assoziationen: Morbus Bechterew und HLA-B 27, Morbus Reiter und HLA-B 27, Hämochromatose und HLA-A 3, Psoriasis vulgaris und HLA-Cw 6, Goodpasture-Syndrom und HLA-DR 2, Zöliakie und HLA-DR 3 (12, 13).

Über die Assoziation von Immunthrombozytopenie und HLA-Antigenen liegen widersprüchliche Arbeiten vor. Im Jahr 1977 berichteten Göbel und Mitarbeiter über statistisch signifikant gehäuftes Auftreten der Antigene HLA-B 8 und HLA-B 12 und deren Kombination bei Patienten mit ITP (79). Nur wenig später erbrachten die Untersuchungen von Karpatkin und Mitarbeitern eine signifikante Assoziation von ITP und HLA-DR 2. Andere Wissenschaftler konnten in der Folgezeit diese Erkenntnisse jedoch nicht bestätigen und auch keine weiteren gewinnen (82, 128, 143, 144, 214).

Trotz der widersprüchlichen Erkenntnisse der letzten Jahre machten wir es uns zur Aufgabe, neben den immunologischen Untersuchungen bei ITP-Patienten und Normalprobanden auch immungenetische Bestimmungen durchzuführen, da in der Frage der Assoziation zwischen bestimmten HLA-Antigenen und ITP das letzte Wort sicherlich noch nicht gesprochen ist. Bei den drei immunfunktionell differenten Kontrollclustern (Mittelhochreagentencluster 1, Niedrigreagentencluster 2, Hochreagentencluster 3), die das Gesamtkontrollkollektiv bildeten, stellten wir uns die Frage, ob sie sich auch hinsichtlich der HLA-Genverteilung voneinander unterscheiden.

6.3. MATERIAL UND METHODEN

6.3.1. Probanden

6.3.1.1. Immunthrombozytopenie

Bei vierzig Patienten mit Immunthrombozytopenie führten wir folgende Bestimmungen von HLA-Antigenen durch: A 1, A 2, A 3, A 9, A 10, A 11, A 28, A 29, Aw 30, B 5, B 7, B 8, B 12, B 13, B 14, Bw 15, Bw 16, Bw 17, Bw 18, Bw 21, Bw 22, B 27,

Bw 35, Bw 37, Bw 40, Bw 53, Cw 1, Cw 2, Cw 3, Cw 4, Cw 5, Cw 6 und Cw 7. Somit betrug die Anzahl der bestimmten HLA-Antigene 33.

6.3.1.2. Kontrollen

Als Kontrollen dienten unsere 88 Normalprobanden, bei denen wir die oben aufgezählten 33 HLA-Antigenspezifitäten ebenfalls bestimmten.

6.3.2. Untersuchungen

6.3.2.1. Bestimmung der HLA-A, HLA-B und HLA-Cw Antigene

Die Klasse-I-Antigene des HLA-Systems (A, B, C) bestimmten wir im Mikrotoxizitätstest nach Terasaki und Mc Clelland (208). Das Testprinzip basiert darauf, daß die Lymphozyten, die das zu testende Antigen aufweisen, durch die monospezifischen HLA-Antisera in Gegenwart von Kaninchenkomplement zerstört werden. Die lysierten Zellen werden mit Eosin angefärbt, während Lymphozyten mit intakter Zellmembran den Farbstoff nicht aufnehmen. Die Auswertung erfolgt im Phasenkontrastmikroskop. Abgetötete Zellen erscheinen dabei dunkel und etwas größer (positive Reaktion) als die lebenden hell leuchtenden Lymphozyten (negative Reaktion). Bei jeder Testserie wird ein negatives und ein positives Kontrollserum mitgeführt. Die Reaktion gilt als positiv wenn die Lysisrate um mindestens 30% höher liegt als in der Negativkontrolle.

Die aus 10 ml heparinisiertem Venenblut separierten Lymphozyten wurden in 1 ml Mc Coy's Medium (Gibco Europe, Glasgow,

Schottland) aufgeschwemmt und auf 4×10^6 Lymphozyten/ml Medium eingestellt. Danach wurden die Mikrotiterplatten mit 5 μ l Paraffin, 1 μ l HLA-Antiserum (Biotest Seruminstitut Frankfurt, Behringwerke AG Marburg) und 1 μ l Lymphozyten-suspension beschickt und für 60 Minuten bei 20° Celsius inkubiert. Danach wurde den Proben 5 μ l Kaninchenkomplement (Behringwerke AG, Marburg) zugegeben und bei 20° Celsius 90 Minuten erneut inkubiert. Darauf folgte die Zugabe von je 4 μ l Eosinlösung 5% (Merck, Darmstadt) und nach weiteren 15 Minuten Wartezeit wurden die Lymphozyten mit je 10 μ l Formaldehyd 37% (pH: 7,25) fixiert, die Mikrotiterplatten mit Deckgläsern bedeckt und ausgewertet. Jede Testserie für eine HLA-Antigenspezifität wurde vierfach durchgeführt.

6.3.3. Mathematische Methodik

Wir berechneten zunächst die prozentuale Verteilung der HLA-Gene in den verschiedenen Gruppen. Dann wurde das relative Risiko (rR) für die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Gruppe aufgrund des gehäuferten Auftretens bestimmter einzelner HLA-Gene in dieser Gruppe mittels der weiter unten stehenden Formel errechnet:

Relatives Risiko (rR) =

Zahl positiver Probanden x Zahl negativer Kontrollen

Zahl positiver Kontrollen x Zahl negativer Probanden

Dabei dienten für jeden Normalprobandencluster die jeweils beiden anderen Cluster, für die Gruppe der Immunthrombopenie das Gesamtnormalprobandenkollektiv als Kontrollgruppe. Das relative Risiko ist ein Maß für die Stärke der Assoziation eines Faktors, in unserem Fall eines HLA-Gens,

zu einer bestimmten Gruppe. Bei einem relativen Risiko > 1 spricht man von einer positiven, bei einem relativen Risiko < 1 von einer negativen Assoziation. Liegt das relative Risiko bei ≥ 2 , so spricht man von biologischer Signifikanz.

In einem zweiten Schritt überprüften wir, ob in einer bestimmten Gruppe biologisch signifikant ($rR \geq 2$) vermehrte HLA-Gene bei den einzelnen Angehörigen dieser Gruppe auch gehäuft kombiniert vorkamen. Wir berechneten dann erneut die prozentuale Häufigkeit dieser Genkombinationen in den einzelnen Gruppen und auch das relative Risiko mit der oben angegebenen Formel, um die biologische Signifikanz für die Genkombinationen zu erhalten.

Wir überprüften ebenfalls, in welchem der immunfunktionell unterschiedlichen Kontrollcluster der Gruppe der Immunthrombozytopenie ähnliche, biologisch signifikante Einzelgen- oder Genkombinationsvermehrungen vorlagen.

Die mathematische Signifikanz wurde mit dem "Exakten Fisher Test" und der Yeates Korrektur berechnet. Dabei muß die Einschränkung gemacht werden, daß der Aussagefähigkeit mathematischer Signifikanzen aufgrund des kleinen Stichprobenumfangs bei enormem Polymorphismus des HLA-Systems leider Grenzen gesetzt sind. Aus diesem Grund führten wir zusätzlich, über die beim Einzelprobanden bestimmte HLA-Genverteilung, eine computergestützte Reklassifizierung in die, in der Clusteranalyse definierten Gruppen durch, um festzustellen ob es gelingen würde Probanden aufgrund ihres HLA-Genmusters ihrem immunfunktionell definierten Cluster häufiger zuzuordnen, als der pure Zufall es erlauben würde (33% der Fälle). Weiterhin haben wir eine Korrektur der p-Werte vorgenommen, die von einigen Autoren zur Festigung der Aussagefähigkeit der mathematischen Signifikanzen, bei bekannter Problematik dieser Berechnungen im HLA-System,

empfohlen wird. Dabei werden die p-Werte mit der Anzahl der bestimmten HLA-Antigenspezifitäten multipliziert, in unserem Fall also mit 33. Bleiben die p-Werte nach dieser Korrektur immer noch statistisch signifikant ($p < 0,05$), so wird ihre statistische Wertigkeit bei den Berechnungen im HLA-System weiter gestützt (82, 109, 129).

6.4. ERGEBNISSE

6.4.1. Gesamtkontrollkollektiv

Die prozentuale Verteilung der HLA-Gene im Gesamtkontrollkollektiv zeigt die Tabelle 1 A.

6.4.2. Kontrollcluster

6.4.2.1. Mittelhochreagentencluster

Aufgrund der errechneten relativen Risiken läßt sich im Kontrollcluster 1 ein Trend zur Vermehrung der Gene A 28 ($rR = 2,8$), Aw 30 ($rR = 4,3$), B 12 ($rR = 2,0$), B 13 ($rR = 2,6$), B 27 ($rR = 2,0$), Bw 53 ($rR = 4,1$), Cw 2 ($rR = 4,0$), Cw 5 ($rR = 2,0$) und Cw 6 ($rR = 3,8$) beobachten (Tabelle 2 A). Dieser Trend läßt sich für Aw 30 und Bw 53 statistisch abstützen ($p < 0,05$).

Analysiert man, bei welchen Probanden wenigstens 2 dieser im Trend vermehrten HLA-Gene kombiniert vorkommen, so findet man solche Genkombinationen im Cluster 1 in 33% der Fälle ($rR = 12,0$), im Cluster 2 in 6% der Fälle ($rR = 0,34$) und im Cluster 3 überhaupt nicht ($rR = 0,0$). Der Trend zur

Vermehrung dieser Genkombinationen im Cluster 1 ist statistisch signifikant ($p < 0,005$).

In der Reklassifikationsanalyse konnten wir 40% der Probanden dieses Clusters allein aufgrund ihrer HLA-Genverteilung richtig in ihren immunfunktionell definierten Cluster reklassifiziert werden.

6.4.2.2. Niedrigreagentencluster 2

Mit Hilfe der errechneten relativen Risiken läßt sich im Kontrollcluster 2 ein Trend zur Vermehrung der HLA-Gene A 9 ($rR = 2,5$), B 14 ($rR = 4,4$), Bw 15 ($rR = 2,1$), Bw 16 ($rR = 7,0$), Bw 18 ($rR = 2,1$), Bw 22 ($rR = 2,5$) und Bw 37 ($rR = 2,5$) feststellen (Tabelle 3 A). Dieser Trend ist für Bw 16 statistisch signifikant ($p < 0,01$).

Analysiert man nun, bei welchen Probanden wenigstens zwei dieser im Trend vermehrten HLA-Gene kombiniert vorkommen, so findet man solche Genkombinationen im Cluster 2 in 20% der Fälle ($rR = 9,7$), im Cluster 1 in nur 6% der Fälle ($rR = 0,4$) und im Cluster 3 gar nicht ($rR = 0,0$). Dieser Trend zur Vermehrung solcher Genkombinationen im Cluster 2 ist statistisch signifikant ($p < 0,03$).

In der Reklassifikationsanalyse konnten 50% der Probanden des Niedrigreagentenclusters 2 allein aufgrund ihres HLA-Genmusters richtig in ihren immunfunktionell definierten Cluster reklassifiziert werden.

6.4.2.3. Hochreagentencluster 3

Aufgrund der errechneten relativen Risiken läßt sich im Kontrollcluster 3 ein Trend zur Vermehrung der HLA-Gene B 5 ($rR = 3,2$), B 8 ($rR = 5,0$), B 13 ($rR = 2,1$), Bw 21 ($rR = 3,4$), Cw 1 ($rR = 3,4$) und Cw 7 ($rR = 3,3$) beobachten (Tabelle 4 A). Dieser Trend läßt sich für B 5 ($p < 0,03$) und B 8 ($p < 0,05$) statistisch abstützen.

Bei der Genkombinationsanalyse, wobei wenigstens zwei dieser im Trend vermehrten Gene bei den einzelnen Probanden vorkommen müssen, findet man solche HLA-Genkombinationen im Cluster 3 in 24% der Fälle ($rR = 21,0$) und in den Clustern 1 und 2 überhaupt nicht ($rR = 0,0$). Dieser Trend läßt sich statistisch abstützen ($p < 0,005$).

In der Reklassifikationsanalyse konnten 70% der Probanden des Hochreagentenclusters 3 nur aufgrund ihrer HLA-Genverteilung richtig in ihren immunfunktionell definierten Cluster reklassifiziert werden.

6.4.3. Immunthrombozytopenie

Aufgrund der errechneten relativen Risiken läßt sich beim ITP-Gesamtkollektiv ($n = 40$) ein Trend zur Vermehrung der HLA-Gene A 1 ($rR = 3,0$), A 10 ($rR = 2,0$), B 8 ($rR = 4,2$), Bw 21 ($rR = 2,3$), B 27 ($rR = 4,0$), Cw 2 ($rR = 6,0$) und Cw 5 ($rR = 2,3$) feststellen (Tabelle 5 A). Dieser Trend läßt sich für die HLA-Gene A 1 ($p < 0,005$), B 8 ($p < 0,001$) und Cw 2 ($p < 0,01$) als statistisch signifikant abstützen.

Die ITP-Untergruppen zeigen einen analogen Trend der Genvermehrung:

Gruppe A (Hauptabbauort Milz; $n = 26$): A 1 ($rR = 2,2$), A 10 ($rR = 2,5$), B 8 ($rR = 4,4$; $p < 0,005$), B 27 ($rR = 3,7$), Cw 2 ($rR = 6,7$; $p < 0,01$) und Cw 5 ($rR = 2,4$).

Gruppe B (Hauptabbauort Leber; $n = 12$): A 1 ($rR = 4,2$; $p < 0,02$), B 8 ($rR = 3,5$), B 27 ($rR = 5,7$), Cw 2 ($rR = 5,7$) und Cw 5 ($rR = 2,6$).

Gruppe C (Abbauzeit bis 2 Tage; $n = 30$): A 1 ($rR = 2,6$; $p = 0,02$), A 10 ($rR = 2,1$), B 8 ($rR = 4,1$; $p = 0,05$), B 27 ($rR = 3,1$), Cw 2 ($rR = 5,7$; $p < 0,02$) und Cw 5 ($rR = 2,0$).

Gruppe D (Abbauzeit 3 bis 7 Tage; $n = 9$): A 1 ($rR = 3,8$), B 8 ($rR = 3,5$), B 27 ($rR = 8,1$), Cw 2 ($rR = 9,4$) und Cw 5 ($rR = 3,5$).

Alle thrombozytenkinetisch gebildeten ITP-Untergruppen sind sich somit immungenetisch ähnlich, auch die beiden immunfunktionell differenten Gruppen C (Schnellabbauer) und D (Langsamabbauer). Aus diesem Grund erübrigt sich eine gesonderte Betrachtung der einzelnen ITP-Untergruppen.

Betrachtet man nun die im Trend vermehrten Einzelgene bei der Immunthrombozytopenie wie oft sie kombiniert vorkommen, so findet man solche Genkombinationen im ITP-Gesamtkollektiv in 45 % der Fälle, im Gesamtkontrollkollektiv nur in 13% der Fälle ($rR = 5,7$). Der Unterschied ist statistisch signifikant ($p < 0,005$).

Vergleicht man das Vorkommen der ITP-Genkombinationen in den Kontrollclustern, so findet man im Hochreagentencluster 3 in 24% der Fälle solche Kombinationen. Das ergibt bei 45% der ITP-Fälle ein $rR = 2,6$. Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant. In den Clustern 1 und 2 finden sich ITP-Genkombinationen nur in 10% der Fälle. Dieser

Unterschied zwischen den Clustern 1 und 2 und dem ITP-Gesamtkollektiv ist statistisch signifikant ($p < 0,005$).

Somit scheint das ITP-Gesamtkollektiv dem Hochreagentencluster 3, mit dem es immunfunktionell nichts gemeinsam hat, immungenetisch ähnlicher zu sein als dem Mittelhochreagentencluster 1, dem die Untergruppe C (Schnellabbauer) angehört, und dem Niedrigreagentencluster 2, zu dem die Untergruppe D (Langsamabbauer) immunfunktionell gehört.

6.5. DISKUSSION

Das gehäufte Auftreten einzelner HLA-Gene in den verschiedenen Kontrollclustern ist in vielen Fällen zwar biologisch ($rR \geq 2$), aber nur in wenigen Fällen statistisch signifikant. Das ändert sich jedoch, wenn man die Genkombinationen der statistisch und/oder biologisch vermehrten Einzelgene in den verschiedenen Clustern betrachtet. Bezüglich dieser Genkombinationen unterscheiden sich alle drei Kontrollcluster, jeder jeweils von den beiden anderen, sowohl biologisch ($rR \geq 2$) als auch statistisch ($p < 0,05$) signifikant. Dies deutet wahrscheinlich, trotz der Einschränkung der Aussagefähigkeit mathematischer Signifikanzen bei kleinem Stichprobenumfang und großem HLA-Polymorphismus, auf eine unterschiedliche HLA-Genverteilung in den drei immunfunktionell differenten Normalprobandenclustern hin. Diese Annahme wird durch die Tatsache gestützt, daß es in einer computergestützten, auf der Ähnlichkeit des HLA-Genverteilungsmusters der Einzelprobanden beruhenden Reklassifikationsanalyse gelang 53% der Probanden ihren immunfunktionell definierten Clustern richtig zuzuordnen. Das ist ein weitaus höherer Prozentsatz als derjenige von 33%, der nur unter optimalsten Bedingungen bei der rein zufälligen Reklassifikation erreicht werden würde. Die Reklassifikation

gelang für den Mittelhochreagentencluster 1 in 40%, für den Niedrigreagentencluster 2 in 50% und für den Hochreagentencluster 3 in 70% der Fälle korrekt.

Die Reklassifikationsanalyse und unsere mathematisch untermauerten immungenetischen Ergebnisse legen die Vermutung nahe, daß immunfunktionell unterschiedliche Probandengruppen, in unserem Fall die drei Kontrollcluster, auch immungenetisch different sein könnten. Daraus folgt die Hypothese, daß die unterschiedliche Immunfunktion bei gesunden Probanden durch eine ebenso unterschiedliche HLA-Genzusammensetzung ihres Haupthistokompatibilitätskomplexes mit determiniert sein könnte. Dabei kommt es wahrscheinlich weniger auf das Vorkommen eines Einzelgens an, sondern vielmehr auf die Kombination verschiedener Gene. Die eigentliche Steuerung der Immunfunktion erfolgt dann wahrscheinlich über die HLA-Antigene, Produkte des Haupthistokompatibilitätskomplexes, die durch ihre molekularen Strukturen die Oberflächenbeschaffenheit immunkompetenter Zellen hauptsächlich bestimmen (36, 42, 117, 146).

Das Kollektiv der Immunthrombozytopenie ist dem Hochreagentencluster 3, mit dem es immunfunktionell nichts gemeinsam hat, immungenetisch ähnlicher als dem Mittelhochreagentencluster 1 und dem Niedrigreagentencluster 2. Die thrombozytenkinetisch gebildeten ITP-Untergruppen verhalten sich dem ITP-Gesamtkollektiv immungenetisch analog, so daß hierbei keine neuen Erkenntnisse gewonnen werden können.

Beim ITP-Gesamtkollektiv fällt auf, daß drei HLA-Antigene im Vergleich zum Normalprobandenkollektiv gehäuft vorkommen. Das sind HLA-A 1, HLA-B 8 und HLA-Cw 2. Das gehäufte Auftreten dieser HLA-Antigene bei Patienten mit Immunthrombozytopenie ist statistisch signifikant: HLA-A 1: $p < 0,005$; HLA-B 8: $p < 0,001$; HLA-Cw 2: $p < 0,01$. Nach einer Korrek-

tur, die wegen der Problematik statistischer Signifikanzen bei HLA-Bestimmungen von einigen Autoren gefordert wird - dabei multipliziert man die errechneten p-Werte mit der Anzahl der bestimmten HLA-Antigenspezifitäten (82, 109, 129), in unserem Fall also mit 33, erhalten wir folgende p-Werte: HLA-A 1: $p < 0,16$; HLA-B 8: $p < 0,03$; HLA-Cw 2: $p < 0,33$. Daraus geht hervor, daß nach der Korrektur nur noch der p-Wert im Fall des HLA-B 8 mit 0,03 weiterhin statistisch signifikant bleibt. Wir können an dieser Stelle auf die Erkenntnisse von Göbel und seinen Mitarbeitern aus dem Jahr 1977 hinweisen (79).

Trotzdem gilt es festzuhalten, daß mathematischen Signifikanzen bei immungenetischen Untersuchungen, wegen des immensen HLA-Polymorphismus bei meistens zu geringem Stichprobenumfang, relativ enge Grenzen gesetzt sind und deshalb ist ihre Interpretation nur mit Einschränkungen und Vorbehalt möglich.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Blutlymphozyten von 50 Patienten mit Immunthrombozytopenie wurden durch 5 Mitogene und 9 Antigene stimuliert und die Blastopoese über 3H-Thymidineinbau gemessen. Die Lymphozytenzahlen, das T-Zellkompartiment und die T-Zellsubfraktionen des peripheren Blutes wurden bestimmt. Die Suppressorzellaktivität wurde im Concanavalin-A-Assay in drei Mitogentestsystemen und in der gemischten Lymphozytenkultur (MLC) gemessen. Schließlich wurden die HLA-A, HLA-B und HLA-Cw Antigene im Mikrotoxizitätstest nach Terasaki und Mc Clelland bestimmt. Als Kontrollkollektiv diente eine Gruppe von 88 gesunden Probanden, bei denen ebenfalls die oben dargelegten Untersuchungen durchgeführt wurden.

Als statistische Methoden kamen eine Clusteranalyse der University of California und die Diskriminanzanalysen, F-Test und T-Test für unverbundene Stichproben ungleicher Varianz, zur Anwendung.

Das Kontrollkollektiv erwies sich in der Clusteranalyse als immunfunktionell uneinheitlich und zerfiel in drei Gruppen mit zwar gleichen Blutlymphozytenverhältnissen, aber signifikant differenter Immunreaktivität auf Mitogene und Antigene: eine Mittelhochreagentengruppe (n = 18), eine Niedrigreagentengruppe (n = 49) und eine Hochreagentengruppe (n = 21). Es gibt offensichtlich schon unter Gesunden wenigstens drei Gruppen mit differentem immunologischem Reaktionsverhalten. Solche immunfunktionell differenten Cluster gesunder Personen könnten dann durchaus als Risikokollektive für unterschiedliche Erkrankungen in Betracht kommen.

Diese immunfunktionell differenten Kontrollcluster zeigen einen Trend zur Häufung von unterschiedlichen HLA-Genen

und Genkombinationen. Dies deutet wohl darauf hin, daß die Immunfunktion bei Gesunden genetisch determiniert sein dürfte, wobei die Klasse-I-Antigene eine gewisse Rolle zu spielen scheinen, auch wenn die Aussagefähigkeit unserer immungenetischen Untersuchungen wegen des großen HLA-Polymorphismus und kleinen Stichprobenumfangs eingeschränkt wird.

Patienten mit Immunthrombozytopenie unterscheiden sich vom Gesamtkontrollkollektiv durch signifikant erniedrigte Lymphozytenzahlen, T-Zell- und T-Zellsubfraktionskompartimente des peripheren Blutes sowie durch eine ebenfalls erniedrigte Concanavalin-A-Blastenaktivität. Teilt man das ITP-Gesamtkollektiv in zwei thrombozytenkinetisch differente Untergruppen C (Abbauzeit bis 2 Tage) und D (Abbauzeit 3 bis 7 Tage), so unterscheiden sich diese Untergruppen nicht nach Lymphozytenverhältnissen und Concanavalin-A-Blastenaktivität, wohl aber hinsichtlich ihrer Lymphozytenreaktivität auf Mitogene und Antigene. Die Schnellabbauer gehören immunfunktionell in den Mittelhochreagentenkontrollcluster 1, die Langsamabbauer dagegen in den Niedrigreagentenkontrollcluster 2. Somit ist es uns gelungen diese zwei unterschiedlichen Verlaufsformen der Immunthrombozytopenie immunfunktionell zu charakterisieren und gegeneinander abzugrenzen. Weiterhin konnten wir bei den Patienten mit Immunthrombozytopenie ein statistisch signifikant gehäuftes Auftreten des Antigens HLA-B 8 feststellen, dessen Signifikanz auch nach Korrektur des p-Wertes erhalten blieb.

Diese Erkenntnisse dürften, neben den pathophysiologischen Aspekten, nicht nur von wissenschaftlicher sondern auch diagnostischer und therapeutischer Bedeutung sein.

8. TABELLEN

TABELLE 1: Gesamtübersicht über die durchgeführten Untersuchungen

Immunfunktionelle Untersuchungen

1. Mitogenstimulation: Protein A (SpA), Concanavalin A (Con A), Pokeweed Mitogen (PWM), Phytohämagglutinin (PHA)
 2. Antigenstimulation: Varidase, Tetanustoxoid, Diphtherietoxoid, Tuberkulin, Vacciniaantigen, Masernantigen, Rötelnantigen, Antigencocktail
 3. Suppressorzellen: Protein A (SpA), Pokeweed Mitogen (PWM), Phytohämagglutinin (PHA), Gemischte Lymphozytenkultur (MLC)
-

Bestimmung von T-Lymphozyten und T-Zellsubklassen

1. OKT 3: Alle T-Zellen
2. OKT 4: T-Helferzellen
3. OKT 8: T-Suppressorzellen
4. OKT 4/8: Helfer- Suppressorzellverhältnis

TABELLE 2: Lymphozytenreaktivität auf Mitogene (cpm) -
Immunthrombozytopenie (ITP)

	ITP (50)			KONTROLLEN (88)	
MITOGENE	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
SpA	2314	1980	n.s.	2155	2382
Con A (25 μ g)	22980	18712	n.s.	21104	23100
Con A (12,5 μ g)	9770	7712	n.s.	11815	12057
PWM	16844	13892	n.s.	20440	21426
PHA	111404	75625	n.s.	119266	82810

Lymphozyten von ITP-Patienten reagieren in allen Mitogen-testsystemen kontrollgruppenanalog.

Abkürzungen: SD = Standardabweichung, SpA = Protein A, Con A = Concanavalin A, PWM = Pokeweed Mitogen, PHA = Phytohämagglutinin.

TABELLE 3: Lymphozytenreaktivität auf Antigene (cpm) -
Immunthrombozytopenie (ITP)

	ITP (50)			Kontrollen (88)	
Antigene	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
Varidase	2156	1841	0,01	3807	6734
Tetanustoxoid	10676	23865	n.s.	10439	19065
Diphtherietoxoid	6096	9651	n.s.	10397	34691
Tuberkulin GT 1	2783	2898	n.s.	2485	3453
Tuberkulin GT 10	2559	2681	n.s.	2584	3828
Masernantigen	1691	1128	n.s.	1684	2301
Vacciniaantigen	2668	2049	0,05	4220	8777
Rötelnantigen	1678	1632	n.s.	2053	3307
Antigencocktail	8059	15328	0,05	13699	21165

Lymphozyten von Patienten mit ITP reagieren auf Varidase, Vacciniaantigen und den Antigencocktail signifikant niedriger als die gesunden Kontrollpersonen. In allen übrigen Antigentestsystemen verhalten sie sich kontrollgruppenanalog.

TABELLE 4: Suppressorzellaktivität (%) - Immunthrombozytopenie (ITP)

	ITP (50)			Kontrollen (88)	
TESTSYSTEM	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
SpA	16%	23%	0,005	33%	40%
PWM	18%	26%	0,005	36%	38%
PHA	30%	25%	n.s.	32%	35%
MLC	17%	31%	0,0005	56%	35%

Patienten mit ITP zeigen im Protein-A-System (SpA) und im Pokeweed-Mitogen-System (PWM) sowie in der gemischten Lymphozytenkultur eine gegenüber den Kontrollen hoch bis höchst signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität.

TABELLE 5: T-Zellsubfraktionen (%) - Immunthrombozytopenie (ITP)

	ITP (50)			Kontrollen (88)	
	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
T-Zellen, gesamt OKT 3	27%	14%	0,0005	42%	13%
T-Helferzellen OKT 4	10%	8%	0,0005	25%	10%
T-Suppressor- und zytotoxische T-Zel- len OKT 8	15%	10%	0,05	19%	7%
OKT 4/8	1,0	1,2	0,03	1,5	0,9

Der prozentuale Anteil der T-Zellen und der T-Zellsubfraktionen an den Lymphozyten des peripheren Blutes sowie das T4/8- Verhältnis sind bei der Immunthrombozytopenie gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigt.

TABELLE 6: T-Zellsubfraktionen (absolut/ μ l) - Immunthrombozytopenie (ITP)

	ITP (50)			Kontrollen (88)	
	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
Lymphozyten	1392	707	0,0005	2067	612
T-Zellen	357	220	0,0005	1031	375
T-Helferzellen	137	119	0,0005	617	280
T-Suppressor- und zytotoxische T-Zellen	201	162	0,0005	482	214

Patienten mit ITP haben verglichen mit dem Kontrollkollektiv im peripheren Blut signifikant erniedrigte Lymphozyten-, T-Zell-, T-Helferzell- und T-Suppressor- sowie T- Effektorzellzahlen.

TABELLE 7: Lymphozytenreaktivität auf Mitogene (cpm) - ITP-
Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber)

	GRUPPE A (33)			KONTROLLEN (88)			GRUPPE B (17)	
MITOGENE	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
SpA	2274	2111	n.s.	2155	2382	n.s.	2390	1784
Con A (25 μ g)	23762	19618	n.s.	21104	23100	n.s.	20624	17720
Con A (12,5 μ g)	9533	7624	n.s.	11815	12057	n.s.	10459	8626
PWM	17752	15110	n.s.	20440	21426	n.s.	13871	10795
PHA	119737	80652	n.s.	119226	82810	n.s.	93618	62467

Sowohl Lymphozyten der Patienten der ITP-Gruppe A als auch der ITP-Gruppe B zeigen ein kontrollgruppenanaloges Reaktionsverhalten auf mitogenen Reiz.

Abkürzungen: ITP = Immunthrombozytopenie, SD = Standardabweichung, SpA = Protein A, Con A = Concanavalin A, PWM = Pokeweed Mitogen, PHA = Phytohämagglutinin.

TABELLE 8: Lymphozytenreaktivität auf Antigene (cpm) - ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber)

	GRUPPE A (33)			KONTROLLEN (88)			GRUPPE B (17)	
ANTIGENE	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
VARIDASE	2318	2026	0,03	3807	6734	0,005	1596	859
TETANUS TOXOID	13163	26696	n.s.	10439	19065	0,0005	2147	2519
DIPHtherie TOXOID	7167	10748	n.s.	10397	34691	0,03	2428	1625
TUBERKULIN GT 1	2867	3008	n.s.	2485	3453	n.s.	2493	2687
TUBERKULIN GT 10	2656	2904	n.s.	2584	3828	n.s.	2227	1863
MASERN- ANTIGEN	1691	1101	n.s.	1684	2301	n.s.	1693	1311
VACCINIA ANTIGEN	2702	1837	n.s.	4220	8777	n.s.	2548	2835
RÖTELN ANTIGEN	1635	1102	n.s.	2053	3307	n.s.	1825	2938
ANTIGEN COCKTAIL	9675	17145	n.s.	13699	21165	0,0005	2517	1305

Lymphozyten der Gruppe A reagieren gegen Varidase, die der Gruppe B zusätzlich gegen Tetanus- und Diphtherietoxoid sowie gegen den Antigencocktail signifikant niedriger als die der Kontrollen.

TABELLE 9: Suppressorzellaktivität (%) - ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber)

	GRUPPE A (33)			KONTROLLEN (88)			GRUPPE B (17)	
TESTSYSTEM	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
SpA	14%	23%	0,005	33%	40%	n.s.	20%	24%
PWM	18%	26%	0,005	36%	38%	0,05	20%	29%
PHA	26%	19%	n.s.	32%	35%	n.s.	38%	34%
MLC	22%	35%	0,0005	56%	35%	0,0005	12%	27%

Die Gruppe A zeigt, das PHA- System ausgenommen, eine gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität. Dies gilt auch für die Gruppe B, Protein A und PHA- System ausgenommen.

Abkürzungen: ITP = Immunthrombozytopenie, SD = Standardabweichung, SpA = Protein A, PWM = Pokeweed Mitogen, PHA = Phytohämagglutinin, MLC = gemischte Lymphozytenkultur.

TABELLE 10: T-Zellsubfraktionen (%) - ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber)

	GRUPPE A (33)			KONTROLLEN (88)			GRUPPE B (17)	
	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
T-Zellen, gesamt OKT 3	27%	12%	0,0005	42%	13%	0,05	30%	19%
T-Helfer- zellen OKT 4	10%	7%	0,0005	25%	10%	0,001	11%	10%
T-Suppres- sor- und zytotoxi- sche T- Zellen OKT 8	14%	8%	0,005	19%	7%	n.s.	19%	15%
OKT 4/8	1,1	1,5	n.s.	1,5	0,9	0,0005	0,5	0,2

Der prozentuale Anteil der T-Zellen, der T-Helferzellen und der T-Suppressor- sowie der zytotoxischen T-Zellen an den Lymphozyten des peripheren Blutes ist bei der Gruppe A signifikant erniedrigt, das T4/8-Verhältnis aber normal. Bei Patienten der Gruppe B ist der prozentuale Anteil der T-Suppressor- und zytotoxischen T-Zellen an den Lymphozyten des peripheren Blutes kontrollgruppenanalog, das T4/8-Verhältnis bei gleichzeitig erniedrigtem T-Helferzellanteil signifikant erniedrigt.

TABELLE 11: T-Zellsubfraktionen (absolut/ μ l) - ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber)

	GRUPPE A (33)			KONTROLLEN (88)			GRUPPE B (17)	
	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
Lymphozyten	1309	658	0,0005	2067	612	0,001	1534	610
T-Zellen	330	191	0,0005	1031	375	0,0005	416	283
T-Helfer-Zellen	126	103	0,0005	617	280	0,0005	163	157
T-Suppressor- und zytotoxische T-Zellen	179	118	0,0005	482	214	0,005	261	227

Die Patienten beider ITP-Untergruppen haben verglichen mit dem Kontrollkollektiv im peripheren Blut signifikant erniedrigte Lymphozyten-, T-Zell-, T-Helferzell und T-Suppressor sowie T-Effektorzellzahlen.

TABELLE 12: Lymphozytenreaktivität auf Mitogene (cpm) -
ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und
B (Hauptabbauort Leber)

	GRUPPE A (33)			GRUPPE B (17)	
MITOGENE	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
SpA	2274	2111	n.s.	2390	1784
Con A (25 µg)	23762	19618	n.s.	20624	17720
Con A (12,5 µg)	9533	7624	n.s.	10459	8626
PWM	17752	15110	n.s.	13871	10795
PHA	119737	80652	n.s.	93618	62467

Die ITP-Untergruppen A und B unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Lymphozytenreaktivität auf mitogenen Reiz nicht.

Abkürzungen: ITP = Immunthrombozytopenie, SD = Standardabweichung, SpA = Protein A, Con A = Concanavalin A, PWM = Pokeweed Mitogen, PHA = Phytohämagglutinin.

TABELLE 13: Lymphozytenreaktivität auf Antigene (cpm) -
ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und
B (Hauptabbauort Leber)

	GRUPPE A (33)			GRUPPE B (17)	
ANTIGENE	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
VARIDASE	2318	2026	n.s.	1596	859
TETANUSTOXOID	13163	26696	0,03	2147	2519
DIPHTherietoxoid	7167	10748	0,03	2428	1625
TUBERKULIN GT 1	2867	3008	n.s.	2493	2687
TUBERKULIN GT 10	2656	2904	n.s.	2227	1863
MASERNANTIGEN	1691	1101	n.s.	1693	1311
VACCINIAANTIGEN	2702	1837	n.s.	2548	2835
RÖTELNANTIGEN	1635	1102	n.s.	1825	2938
ANTIGENCOCKTAIL	9675	17145	0,03	2517	1305

Patienten der ITP-Untergruppe B zeigen gegen Tetanus- und Diphtherietoxoid sowie gegen den Antigencocktail eine signifikant schwächere Lymphozytenreaktivität als die der Gruppe A.

TABELLE 14: Suppressorzellaktivität (%) - ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber)

	GRUPPE A (33)			GRUPPE B(17)	
TESTSYSTEM	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
SpA	14%	23%	n.s.	20%	24%
PWM	18%	26%	n.s.	20%	29%
PHA	26%	19%	n.s.	38%	34%
MLC	22%	35%	n.s.	12%	27%

Die Suppressorzellaktivität der ITP-Untergruppen A und B unterscheidet sich nicht signifikant.

Abkürzungen: ITP = Immunthrombozytopenie, SD = Standardabweichung, SpA = Protein A, PWM = Pokeweed Mitogen, PHA = Phytohämagglutinin, MLC = gemischte Lymphozytenkultur.

TABELLE 15: T-Zellsubfraktionen (%) - ITP-Untergruppen A
(Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber)

	GRUPPE A (33)			GRUPPE B (17)	
	$\bar{x}$	SD	$p <$	$\bar{x}$	SD
T-Zellen, gesamt OKT 3	27%	12%	n.s.	30%	19%
T-Helferzellen OKT 4	10%	7%	n.s.	11%	10%
T-Suppressor- und zytotoxische T-Zellen OKT 8	14%	8%	n.s.	19%	14%
OKT 4/8	1,1	1,5	0,05	0,5	0,2

Die ITP-Untergruppe B zeigt ein signifikant niedrigeres
T4/8- Verhältnis als die Gruppe A.

TABELLE 16: T-Zellsubfraktionen (absolut/ μ l) - ITP-Untergruppen A (Hauptabbauort Milz) und B (Hauptabbauort Leber)

	GRUPPE A (33)			GRUPPE B (17)	
	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
Lymphozyten	1309	658	n.s.	1534	610
T-Zellen	330	191	n.s.	416	283
T-Helferzellen	126	103	n.s.	163	157
T-Suppressor- und zytotoxische T-Zellen	179	118	n.s.	261	227

Hinsichtlich Lymphozyten-, T-Zell-, T-Helfer- und T-Suppressor-/Effektorzellzahlen pro Mikroliter peripheren Blutes unterscheiden sich die ITP-Untergruppen A und B nicht.

TABELLE 17: Lymphozytenreaktivität auf Mitogene (cpm) - ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 48 h) und D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

	GRUPPE C (38)			KONTROLLEN (88)			GRUPPE D (12)	
MITOGENE	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
SpA	2513	2247	n.s.	2155	2382	0,05	1683	761
Con A (25 μ g)	27743	19276	0,05	21104	23100	0,0005	8365	6687
Con A (12,5 μ g)	11902	7876	n.s.	11815	12057	0,0005	3447	2188
PWM	19260	14160	n.s.	20440	21426	0,01	8959	10891
PHA	129663	77002	n.s.	119266	82810	0,001	61230	46570

Während die Gruppe C in allen Testsystemen eine kontrollgruppenanaloge Lymphozytenreaktivität zeigt, gegen hochkonzentriertes Con A (25 μ g) sogar signifikant höher reagiert als die Kontrollen, ist die Lymphozytenreaktivität der Gruppe D in allen Mitogentestsystemen signifikant niedriger als die der Kontrollen.

Abkürzungen: ITP = Immunthrombozytopenie, SD = Standardabweichung, SpA = Protein A, Con A = Concanavalin A, PWM = Pokeweed Mitogen, PHA = Phytohämagglutinin.

TABELLE 18: Lymphozytenreaktivität auf Antigene (cpm) - ITP-
Untergruppen C (Abbauzeit bis 48 h) und D (Abbau-
zeit 3 - 7 Tage)

ANTIGENE	GRUPPE C (38)			KONTROLLEN (88)			GRUPPE D (12)	
	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
VARIDASE	2329	2006	0,03	3807	6734	0,005	1732	1368
TETANUS TOXOID	14209	27709	n.s.	10439	19065	0,0005	2040	1404
DIPHThERIE TOXOID	7418	11191	n.s.	10397	34691	0,03	2867	1993
TUBERKULIN GT 1	2674	2492	n.s.	2485	3453	n.s.	3049	3884
TUBERKULIN GT 10	2809	3097	n.s.	2584	3828	n.s.	1950	1102
MASERN ANTIGEN	1697	1143	n.s.	1684	2301	n.s.	1677	1161
VACCINIA ANTIGEN	2525	1908	0,05	4220	8777	n.s.	3017	2449
RÖTELN ANTIGEN	1619	1695	n.s.	2053	3307	n.s.	1822	1553
ANTIGEN COCKTAIL	10188	17820	n.s.	13699	21165	0,0005	2855	2130

Gruppe C zeigt gegen Varidase und Vacciniaantigen, Gruppe D gegen Varidase, Tetanustoxoid, Diphtherietoxoid und den Antigencocktail eine signifikant niedrigere Lymphozytenreaktivität als die Kontrollgruppe.

TABELLE 19: Suppressorzellaktivität (%) - ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 48 h) und D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

	GRUPPE C (38)			KONTROLLEN (88)			GRUPPE D (12)	
TESTSYSTEM	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
SpA	17%	24%	0,001	33%	40%	0,005	9%	14%
PWM	18%	27%	0,005	36%	38%	n.s.	21%	26%
PHA	28%	24%	n.s.	32%	35%	n.s.	38%	24%
MLC	17%	29%	0,0005	56%	35%	0,05	25%	43%

Die Gruppe C zeigt, das PHA-System ausgenommen, eine gegenüber den Kontrollen erniedrigte Suppressorzellaktivität. Dies gilt auch für die Gruppe D, PWM- und PHA-System ausgenommen.

Abkürzungen: ITP = Immunthrombozytopenie, SD = Standardabweichung, SpA = Protein A, PWM = Pokeweed Mitogen, PHA = Phytohämagglutinin, MLC = gemischte Lymphozytenkultur.

TABELLE 20: T-Zellsubfraktionen (%) - ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 48 h) und D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

	GRUPPE C (38)			KONTROLLEN (88)			GRUPPE D (12)	
	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
T-Zellen, gesamt OKT 3	30%	14%	0,0005	42%	13%	0,0005	20%	11%
T-Helfer- zellen OKT 4	11%	8%	0,0005	25%	10%	0,0005	9%	9%
T-Suppres- sor- und zytotoxi- sche T-Zel- len OKT 8	18%	11%	n.s.	19%	7%	0,0005	10%	5%
OKT 4/8	0,9	1,4	0,05	1,5	0,9	n.s.	1,0	0,9

Der prozentuale Anteil der T-Zellen, T-Helferzellen und T-Suppressor-/Effektorzellen an den Lymphozyten des peripheren Blutes ist bei der Gruppe D signifikant erniedrigt, das T4/8-Verhältnis aber normal. Bei Patienten der Gruppe C ist der prozentuale Anteil der T-Suppressor-/Effektorzellen kontrollgruppenanalog, das T4/8-Verhältnis signifikant erniedrigt.

TABELLE 21: T-Zellsubfraktionen (absolut/ μ l) - ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 48 h) und D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

	GRUPPE C (38)			KONTROLLEN (88)			GRUPPE D (12)	
	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
Lymphozyten	1427	619	0,0005	2067	612	0,001	1284	732
T-Zellen	413	228	0,0005	1031	375	0,0005	203	125
T-Helferzellen	152	128	0,0005	617	280	0,0005	99	99
T-Suppressor- und zytotoxische T-Zellen	242	172	0,0005	482	214	0,0005	104	68

Die Patienten beider ITP-Untergruppen haben, verglichen mit dem Kontrollkollektiv im peripheren Blut signifikant erniedrigte Lymphozyten-, T-Zell-, T-Helferzell- und T-Suppressor-/Effektorzellzahlen.

TABELLE 22: Lymphozytenreaktivität auf Mitogene (cpm) -
ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 48 h) und
D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

	GRUPPE C (38)			GRUPPE D (12)	
MITOGENE	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
SpA	2513	2247	0,05	1683	761
Con A (25 μ g)	27743	19276	0,0005	8365	6687
Con A (12,5 μ g)	11902	7876	0,0005	3447	2188
PWM	19260	14160	0,01	8959	10891
PHA	129663	77002	0,001	61230	46570

Die Lymphozytenreaktivität auf mitogenen Reiz ist bei der Gruppe D in allen Testsystemen signifikant niedriger als die der Gruppe C.

Abkürzungen: ITP = Immunthrombozytopenie, SD = Standardabweichung, SpA = Protein A, Con A = Concanavalin A, PWM = Pokeweed Mitogen, PHA = Phytohämagglutinin.

TABELLE 23: Lymphozytenreaktivität auf Antigene (cpm) -
ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 48 h) und
D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

	GRUPPE C (38)			GRUPPE D (12)	
ANTIGENE	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
VARIDASE	2329	2006	n.s.	1732	1368
TETANUSTOXOID	14209	27709	0,03	2040	1404
DIPHTHERIETOXOID	7418	11191	0,03	2867	1993
TUBERKULIN GT 1	2674	2492	n.s.	3049	3884
TUBERKULIN GT 10	2809	3097	n.s.	1950	1102
MASERNANTIGEN	1697	1143	n.s.	1677	1161
VACCINIAANTIGEN	2525	1908	n.s.	3017	2449
RÖTELNANTIGEN	1619	1695	n.s.	1822	1553
ANTIGENCOCKTAIL	10188	17820	0,03	2855	2130

Die Lymphozytenreaktivität der Gruppe D ist gegen Tetanus-toxoid, Diphtherietoxoid und den Antigencocktail signifikant niedriger als die der Gruppe C.

TABELLE 24: Suppressorzellaktivität (%) - ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 48 h) und D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

	GRUPPE C (38)			Gruppe D (12)	
TESTSYSTEM	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
SpA	17%	24%	n.s.	9%	14%
PWM	18%	27%	n.s.	21%	26%
PHA	28%	24%	n.s.	38%	24%
MLC	17%	29%	n.s.	25%	43%

Die Suppressorzellaktivität der ITP-Untergruppen C und D unterscheidet sich nicht statistisch signifikant.

Abkürzungen: ITP = Immunthrombozytopenie, SD = Standardabweichung, SpA = Protein A, PWM = Pokeweed Mitogen, PHA = Phytohämagglutinin, MLC = Gemischte Lymphozytenkultur.

TABELLE 25: T-Zellsubfraktionen (%) - ITP-Untergruppen C
(Abbauzeit bis 48 h) und D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

	GRUPPE C (38)			GRUPPE D (12)	
	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
T-Zellen, gesamt OKT 3	30%	14%	0,05	20%	11%
T-Helferzellen OKT 4	11%	8%	n.s.	9%	9%
T-Suppressor und zy- totoxische T-Zellen OKT 8	18%	11%	0,01	10%	5%
OKT 4/8	0,9	1,4	n.s.	1,0	0,9

Die Gruppe D zeigt einen signifikant niedrigeren T- und T-Suppressor-/Effektorzellanteil an den Lymphozyten des peripheren Blutes als die Gruppe C.

TABELLE 26: T-Zellsubfraktionen (absolut/ μ l) - ITP-Untergruppen C (Abbauzeit bis 48 h) und D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

	GRUPPE C (38)			GRUPPE D (12)	
	$\bar{x}$	SD	p <	$\bar{x}$	SD
Lymphozyten	1427	619	n.s.	1284	732
T-Zellen	413	228	0,005	203	125
T-Helferzellen	152	128	n.s.	99	99
T-Suppressor- und zytotoxische T-Zellen	242	172	0,005	104	68

Die Gruppe D besitzt signifikant weniger T- und T-Suppressor sowie zytotoxische T-Zellen pro Mikroliter peripheren Blutes als die Gruppe C.

TABELLE 27: Lymphozytenreaktivität auf Mitogene (cpm) -
Kontrollcluster

MITOGENE	GRUPPE 1 (18)		GRUPPE 2 (49)		GRUPPE 3 (21)	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
SpA	3023	3030	1434	892	3478	3657
Con A (25 μ g)	37705	25560	10985	11934	27822	30481
Con A (12,5 μ g)	17206	11178	4905	4766	20336	14312
PWM	24507	18565	10451	11098	36215	22680
PHA	147362	75529	82103	70330	188656	79764

Lymphozyten von Probanden der Gruppe 1 reagieren mittelhoch, die der Gruppe 2 niedrig und die der Gruppe 3 hoch auf mitogene Stimulation.

Abkürzungen: SD = Standardabweichung, SpA = Protein A, Con A = Concanavalin A, PWM = Pokeweed Mitogen, PHA = Phytohämagglutinin.

TABELLE 28: Lymphozytenreaktivität auf Antigene (cpm) - Kontrollcluster

ANTIGENE	GRUPPE 1 (18)		Gruppe 2 (49)		GRUPPE 3 (21)	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
VARIDASE	2377	1707	2167	2389	9429	12508
TETANUSTOXOID	12102	13442	2597	3235	23287	27823
DIPHTHERIE TOXOID	5370	6902	1973	5215	36454	69109
TUBERKULIN GT 1	1930	1445	1483	1265	5582	6185
TUBERKULIN GT 10	2157	2007	1456	1255	5377	6626
MASERNANTIGEN	1512	969	1010	592	3527	4371
VACCINIAANTI- GEN	2407	1376	1602	1101	12061	16606
RÖTELNANTIGEN	1481	1377	1281	1156	4541	6245
ANTIGEN- COCKTAIL	8548	10172	5834	7956	38063	31812

Lymphozyten von Probanden der Gruppe 1 reagieren mittelhoch, die der Gruppe 2 niedrig und die der Gruppe 3 hoch auf antigene Stimulation.

TABELLE 29: Statistische Signifikanz der Unterschiede im lymphozytären Proliferationsverhalten auf Mitogene zwischen den Kontrollclustern

		GRUPPE 1/2	GRUPPE 1/3	GRUPPE 2/3
MITOGENE	F>	p<	p<	p<
SpA	6,9	0,003	n.s.	0,01
Con A (25 µg)	12,7	0,0005	0,005	0,01
Con A (12,5 µg)	25,2	0,0005	n.s.	0,0005
PWM	19,9	0,005	0,05	0,0005
PHA	16,8	0,0005	0,01	0,0005

Die lymphozytäre Immunantwort der drei Kontrollcluster auf Mitogene unterscheidet sich statistisch signifikant, wobei sich die Hochreagentengruppe 3 stärker von der Gruppe 1 und 2 unterscheidet, als diese beiden Gruppen sich untereinander unterscheiden.

Abkürzungen: SpA = Protein A, Con A = Concanavalin A, PWM = Pokeweed Mitogen, PHA = Phytohämagglutinin.

TABELLE 30: Statistische Signifikanz der Unterschiede im lymphozytären Proliferationsverhalten auf Antigene zwischen den Kontrollclustern

		GRUPPE 1/2	GRUPPE 1/3	GRUPPE 2/3
ANTIGENE	F >	p <	p <	p <
VARIDASE	10,2	n.s.	0,01	0,01
TETANUSTOXOID	14,4	0,005	n.s.	0,003
DIPHTHERIETOXOID	7,9	0,05	0,05	0,03
TUBERKULIN GT 1	12,4	n.s.	0,003	0,005
TUBERKULIN GT 10	9,5	n.s.	0,03	0,01
MASERNANTIGEN	9,6	0,05	0,05	0,01
VACCINIAANTIGEN	12,8	0,03	0,01	0,005
RÖTELNANTIGEN	8,0	n.s.	0,03	0,03
ANTIGENCOCKTAIL	27,1	0,02	0,0005	0,0005

Die lymphozytäre Immunantwort der drei Kontrollcluster auf Antigene unterscheidet sich statistisch signifikant, wobei sich die Hochreagentengruppe 3 stärker von Gruppe 1 und 2 unterscheidet, als diese beiden Gruppen sich untereinander unterscheiden.

TABELLE 31: Suppressorzellaktivität (%) - Kontrollcluster

	GRUPPE 1 (18)		GRUPPE 2 (49)		GRUPPE 3 (21)	
TESTSYSTEM	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
SpA	27%	36%	36%	41%	29%	41%
PWM	29%	38%	32%	40%	53%	35%
PHA	41%	37%	26%	35%	36%	34%
MLC	63%	33%	51%	37%	62%	29%

Die Angehörigen aller drei Kontrollcluster zeigen in allen Testsystemen eine im wesentlichen analoge Suppressorzellaktivität.

Abkürzungen: SD = Standardabweichung, SpA = Protein A, PWM = Pokeweed Mitogen, PHA = Phytohämagglutinin, MLC = gemischte Lymphozytenkultur.

TABELLE 32: Suppressorzellaktivität (%) - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern

		GRUPPE 1/2	GRUPPE 1/3	GRUPPE 2/3
TESTSYSTEM	F >	p <	p <	p <
SpA	0,5	n.s.	n.s.	n.s.
PWM	2,6	n.s.	n.s.	n.s.
PHA	1,6	n.s.	n.s.	n.s.
MLC	1,1	n.s.	n.s.	n.s.

Die Suppressorzellaktivität der drei Kontrollgruppen unterscheidet sich in keinem Testsystem statistisch signifikant.

Abkürzungen: SpA = Protein A, PWM = Pokeweed Mitogen, PHA = = Phytohämagglutinin, MLC = gemischte Lymphozytenkultur.

TABELLE 33: T-Zellsubfraktionen (%) - Kontrollcluster

	GRUPPE 1 (18)		GRUPPE 2 (49)		GRUPPE 3 (21)	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
T-Zellen, gesamt OKT 3	45%	16%	43%	13%	38%	17%
T-Helferzellen OKT 4	28%	13%	27%	8%	22%	13%
T-Suppressor- und zytotoxi- sche T-Zellen OKT 8	20%	7%	19%	8%	21%	9%
OKT 4/8	1,4	0,9	1,4	0,7	1,0	0,6

Die relativen T-Zell- und T-Zellsubfraktionskompartimente sowie das T4/8-Verhältnis sind bei allen drei Kontrollclustern im wesentlichen analog.

TABELLE 34: T-Zellsubfraktionen (%) - Statistische Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern

		GRUPPE 1/2	GRUPPE 1/3	GRUPPE 2/3
	F >	p <	p <	p <
T-Zellen,gesamt OKT 3	0,15	n.s.	n.s.	n.s.
T-Helferzellen OKT 4	0,54	n.s.	n.s.	n.s.
T-Suppressor- und zytotoxische T- Zellen	1,00	n.s.	n.s.	n.s.
OKT 4/8	0,63	n.s.	n.s.	n.s.

Der prozentuale Anteil der T-Zellen und T-Zellsubfraktionen an den Lymphozyten des peripheren Blutes sowie die T4/8-Verhältnisse der drei Kontrollcluster unterscheiden sich nicht signifikant.

TABELLE 35: T-Zellsubfraktionen (absolut/ μ l) - Kontrollcluster

	GRUPPE 1 (18)		GRUPPE 2 (49)		GRUPPE 3 (21)	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
Lymphozyten	1976	491	2132	586	2279	621
T-Zellen	1092	378	1061	322	1027	465
T-Helferzellen	635	317	657	215	581	362
T-Suppressor- und zytotoxi- sche T-Zellen	476	178	479	189	554	277

Die drei Kontrollgruppen besitzen im wesentlichen analoge Lymphozyten-, T-Zell-, T-Helfer und T-Suppressor-/Effektorzellzahlen pro Mikroliter peripheren Blutes.

TABELLE 36: T-Zellsubfraktionen (absolut/ μ l)- Statistische Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern

		GRUPPE 1/2	GRUPPE 1/3	GRUPPE 2/3
	F >	p <	p <	p <
Lymphozyten	1,00	n.s.	n.s.	n.s.
T-Zellen	0,15	n.s.	n.s.	n.s.
T-Helferzellen	0,54	n.s.	n.s.	n.s.
T-Suppressor- und zytotoxische T-Zellen	1,00	n.s.	n.s.	n.s.

Die absoluten Lymphozyten-, T-Zell-, T-Helferzell- und T-Suppressor-/Effektorzellzahlen der drei Kontrollgruppen unterscheiden sich pro Mikroliter peripheren Blutes nicht statistisch signifikant.

TABELLE 37: Mitogen- und Antigenstimulation - Signifikanz der Unterschiede zwischen Kontrollclustern und dem ITP-Gesamtkollektiv

	ITP/1	ITP/2	ITP/3
	p <	p <	p <
MITOGENE			
Protein A	n.s.	0,005	n.s.
Concanavalin A (25 µg)	0,03	0,0005	n.s.
Concanavalin A (12,5 µg)	0,01	0,0005	0,001
Pokeweed Mitogen	0,05	0,01	0,0005
Phytohämagglutinin	0,05	0,03	0,0005
ANTIGENE			
Varidase	n.s.	n.s.	0,01
Tetanustoxoid	n.s.	0,03	0,05
Diphtherietoxoid	n.s.	0,01	0,03
Tuberkulin GT 1	n.s.	0,01	0,03
Tuberkulin GT 10	n.s.	0,03	0,05
Masernantigen	n.s.	0,001	0,05
Vacciniaantigen	n.s.	0,005	0,01
Rötelnantigen	n.s.	n.s.	0,03
Antigencocktail	n.s.	n.s.	0,0005

Die Lymphozytenreaktivität des ITP-Gesamtkollektivs entspricht im wesentlichen der des Mittelhochreagentenclusters 1.

TABELLE 38: Suppressorzellaktivität (%) - Signifikanz der Unterschiede zwischen Kontrollclustern und dem ITP-Gesamtkollektiv

	ITP/1	ITP/2	ITP/3
TESTSYSTEM	p <	p <	p <
PROTEIN A	n.s.	0,005	n.s.
POKEWEED MITOGEN	n.s.	0,05	0,0005
PHYTOHÄMAGGLUTININ	n.s.	n.s.	n.s.
GEMISCHTE LYMPHOZYTEN-KULTUR	0,0005	0,0005	0,0005

ITP-Patienten zeigen eine gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität.

TABELLE 39: T-Zellsubfraktionen (%) - Signifikanz der Unterschiede zwischen Kontrollclustern und dem ITP-Gesamtkollektiv

	ITP/1	ITP/2	ITP/3
	p <	p <	p <
T-Zellen, gesamt OKT 3	0,005	0,005	0,05
T-Helferzellen OKT 4	0,0005	0,005	0,0005
T-Suppressor- und zy- totoxische T-Zellen OKT 8	0,05	0,05	0,03
OKT 4/8	0,05	0,01	n.s.

Der prozentuale Anteil der T-Zellen und ihrer Subfraktionen an den Lymphozyten des peripheren Blutes ist beim ITP-Gesamtkollektiv gegenüber allen drei Kontrollclustern signifikant erniedrigt. Dies gilt auch bezüglich des T4/8-Verhältnisses gegenüber den Clustern 1 und 2.

TABELLE 40: T-Zellsubfraktionen (absolut/ μ l) - Signifikanz der Unterschiede zwischen Kontrollclustern und dem ITP-Gesamtkollektiv

	ITP/1	ITP/2	ITP/3
	p <	p <	p <
Lymphozyten	0,005	0,0005	0,001
T-Zellen	0,0005	0,0005	0,0005
T-Helferzellen	0,0005	0,0005	0,0005
T-Suppressor-/Effektorzellen	0,0005	0,0005	0,0005

Lymphozyten-, T-Zell-, T-Helfer- und T-Suppressor-/T-Effektorzellzahlen pro Mikroliter peripheren Blutes sind beim ITP-Gesamtkollektiv gegenüber allen drei Kontrollclustern signifikant erniedrigt.

TABELLE 41: Mitogen- und Antigenstimulation - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe A (Hauptabbauort Milz)

	ITP-A/1	ITP-A/2	ITP-A/3
	p <	p <	p <
MITOGENE			
Protein A	n.s.	0,03	n.s.
Concanavalin A (25 µg)	0,03	0,001	n.s.
Concanavalin A (12,5 µg)	0,01	0,005	0,001
Pokeweed Mitogen	n.s.	0,01	0,001
Phytohämagglutinin	n.s.	0,03	0,001
ANTIGENE			
Varidase	n.s.	n.s.	0,01
Tetanustoxoid	n.s.	0,03	n.s.
Diphtherietoxoid	n.s.	0,03	0,03
Tuberkulin GT 1	n.s.	0,03	0,05
Tuberkulin GT 10	n.s.	0,03	0,05
Masernantigen	n.s.	0,005	0,05
Vacciniaantigen	n.s.	0,005	0,01
Rötelnantigen	n.s.	n.s.	0,03
Antigencocktail	n.s.	n.s.	0,0005

Die Lymphozytenreaktivität der ITP-Gruppe A entspricht im wesentlichen der des Mittelhochreagentenclusters 1.

TABELLE 42: Mitogen- und Antigenstimulation - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe B (Hauptabbauort Leber)

	ITP-B/1	ITP-B/2	ITP-B/3
	p <	p <	p <
MITOGENE			
Protein A	n.s.	0,05	n.s.
Concanavalin A (25 µg)	0,03	0,05	n.s.
Concanavalin A (12,5 µg)	0,05	0,03	0,01
Pokeweed Mitogen	0,03	0,05	0,0005
Phytohämagglutinin	0,03	n.s.	0,0005
ANTIGENE			
Varidase	n.s.	n.s.	0,005
Tetanustoxoid	0,005	n.s.	0,001
Diphtherietoxoid	n.s.	n.s.	0,03
Tuberkulin GT 1	n.s.	n.s.	0,05
Tuberkulin GT 10	n.s.	n.s.	0,03
Masernantigen	n.s.	n.s.	0,01
Vacciniaantigen	n.s.	n.s.	0,05
Rötelnantigen	n.s.	n.s.	0,05
Antigencocktail	0,01	0,005	0,0005

Die Lymphozytenreaktivität der ITP-Gruppe B ist teilweise signifikant niedriger als die des Mittelhochreagentenclusters 1 ohne allerdings in vollem Umfang der des Niedrigreagentenclusters 2 wirklich ähnlich zu sein.

TABELLE 43: Suppressorzellaktivität (%) - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe A (Hauptabbauort Milz)

	ITP-A/1	ITP-A/2	ITP-A/3
TESTSYSTEM	p <	p <	p <
Protein A	n.s.	0,005	n.s.
POKEWEED MITOGEN	n.s.	0,05	0,0005
PHYTOHÄMAGGLUTININ	0,05	n.s.	n.s.
GEMISCHTE LYMPHOZYTEN-KULTUR	0,0005	0,001	0,0005

Die ITP-Gruppe A zeigt eine gegenüber den Kontrollclustern erniedrigte Suppressorzellaktivität.

TABELLE 44: Suppressorzellaktivität (%) - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe B (Hauptabbauort Leber)

	ITP-B/1	ITP-B/2	ITP-B/3
TESTSYSTEM	p <	p <	p <
PROTEIN A	n.s.	0,05	n.s.
POKEWEED MITOGEN	n.s.	n.s.	0,005
PHYTOHÄMAGGLUTININ	n.s.	n.s.	n.s.
GEMISCHTE LYMPHOZYTEN-KULTUR	0,0005	0,0005	0,0005

Die ITP-Gruppe B zeigt eine gegenüber den Kontrollclustern erniedrigte Suppressorzellaktivität.

TABELLE 45: T-Zellsubfraktionen (%) - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe A (Hauptabbauort Milz)

	ITP-A/1	ITP-A/2	ITP-A/3
	p <	p <	p <
T-Zellen gesamt OKT 3	0,0005	0,0005	0,0005
T-Helferzellen OKT 4	0,0005	0,0005	0,0005
T-Suppressor- und zyto- toxische T-Zellen OKT 8	0,01	0,01	0,01
OKT 4/8	n.s.	n.s.	n.s.

Die prozentualen Anteile der T-, T-Helfer- und T-Suppressor-/T-Effektorzellen an den Lymphozyten des peripheren Blutes sind bei der ITP-Gruppe A signifikant erniedrigt, das T4/8-Verhältnis ist kontrollgruppenanalog.

TABELLE 46: T-Zellsubfraktionen (%) - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe B (Hauptabbauort Leber)

	ITP-B/1	ITP-B/2	ITP-B/3
	P <	P <	P <
T-Zellen, gesamt OKT 3	0,03	0,05	n.s.
T-Helferzellen OKT 4	0,001	0,0005	0,01
T-Suppressor- und zytotoxische T-Zellen OKT 8	n.s.	n.s.	n.s.
OKT 4/8	0,0005	0,0005	0,0005

Die prozentualen Anteile der T- und T-Helferzellen an den Lymphozyten des peripheren Blutes sind bei der ITP-Gruppe B signifikant erniedrigt, die relativen Anteile von Suppressor- und zytotoxischen T-Zellen dagegen normal. Das T4/8-Verhältnis ist dann signifikant niedriger als bei den Kontrollclustern.

TABELLE 47: T-Zellsubfraktionen (absolut/ μ l) - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe A (Hauptabbauort Milz)

	ITP-A/1	ITP-A/2	ITP-A/3
	p <	p <	p <
Lymphozyten	0,01	0,0005	0,0005
T-Zellen	0,0005	0,0005	0,0005
T-Helferzellen	0,0005	0,0005	0,0005
T-Suppressor/Effektorzellen	0,0005	0,0005	0,0005

Die absoluten Lymphozyten-, T-Zell-, T-Helfer- und T-Suppressor-/Effektorzellzahlen sind bei der ITP-Gruppe A signifikant niedriger als bei den drei Kontrollclustern.

TABELLE 48: T-Zellsubfraktionen (absolut/ μ l) - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe B (Hauptabbauort Leber)

	ITP-B/1	ITP-B/2	ITP-B/3
	p <	p <	p <
Lymphozyten	0,03	0,001	0,005
T-Zellen	0,005	0,0005	0,0005
T-Helferzellen	0,005	0,0005	0,0005
T-Suppressor-/Effektorzellen	0,01	0,01	0,005

Die absoluten Lymphozyten-, T-Zell-, T-Helfer- und T-Suppressor-/Effektorzellzahlen pro Mikroliter peripheren Blutes sind bei der ITP-Gruppe B signifikant niedriger als bei den Kontrollen.

TABELLE 49: Mitogen- und Antigenstimulation - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe C (Abbauzeit bis 48 h)

	ITP-C/1	ITP-C/2	ITP-C/3
	p <	p <	p <
MITOGENE			
Protein A	n.s.	0,01	n.s.
Concanavalin A (25 µg)	n.s.	0,0005	n.s.
Concanavalin A (12,5 µg)	0,05	0,0005	0,01
Pokeweed Mitogen	n.s.	0,005	0,005
Phytohämagglutinin	n.s.	0,005	0,005
ANTIGENE			
Varidase	n.s.	n.s.	0,01
Tetanustoxoid	n.s.	0,03	n.s.
Diphtherietoxoid	n.s.	0,03	0,05
Tuberkulin GT 1	n.s.	0,03	0,03
Tuberkulin GT 10	n.s.	0,03	0,05
Masernantigen	n.s.	0,05	0,05
Vacciniaantigen	n.s.	0,03	0,01
Rötelnantigen	n.s.	n.s.	0,03
Antigencocktail	n.s.	n.s.	0,0005

Die ITP-Gruppe C zeigt eine dem Mittelhochreagentencluster 1 analoge Lymphozytenreaktivität.

TABELLE 50: Mitogen- und Antigenstimulation - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe D (Abbaupzeit 3 - 7 Tage)

	ITP-D/1	ITP-D/2	ITP-D/3
	p <	p <	p <
MITOGENE			
Protein A	0,05	n.s.	0,03
Concanavalin A (25 µg)	0,0005	n.s.	0,005
Concanavalin A (12,5 µg)	0,0005	n.s.	0,0005
Pokeweed Mitogen	0,005	n.s.	0,0005
Phytohämagglutinin	0,0005	n.s.	0,0005
ANTIGENE			
Varidase	n.s.	n.s.	0,005
Tetanustoxoid	0,005	n.s.	0,001
Diphtherietoxoid	n.s.	n.s.	0,03
Tuberkulin GT 1	n.s.	n.s.	n.s.
Tuberkulin GT 10	n.s.	n.s.	0,01
Masernantigen	n.s.	n.s.	0,05
Vacciniaantigen	n.s.	n.s.	0,01
Rötelnantigen	n.s.	n.s.	0,05
Antigencocktail	0,03	0,01	0,0005

Die ITP-Gruppe D zeigt eine dem Niedrigreagentencluster 2 analoge Lymphozytenreaktivität.

TABELLE 51: Suppressorzellaktivität (%) - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe C (Abbauzeit bis 48 h)

	ITP-C/1	ITP-C/2	ITP-C/3
TESTSYSTEM	p <	p <	p <
PROTEIN A	n.s.	0,01	n.s.
POKEWEED MITOGEN	n.s.	0,05	0,005
PHYTOHÄMAGGLUTININ	n.s.	n.s.	n.s.
GEMISCHTE LYMPHOZYTEN - KULTUR	0,0005	0,0005	0,0005

Die ITP-Gruppe C zeigt eine gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität, wobei die Unterschiede zum Mittelhochreagentencluster 1 am geringsten sind.

TABELLE 52: Suppressorzellaktivität (%) - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

	ITP-D/1	ITP-D/2	ITP-D/3
TESTSYSTEM	p <	p <	p <
PROTEIN A	0,05	0,005	0,05
POKEWEED MITOGEN	n.s.	n.s.	0,03
PHYTOHÄMAGGLUTININ	n.s.	n.s.	n.s.
GEMISCHTE LYMPHOZYTEN-KULTUR	0,03	n.s.	0,03

Die ITP-Gruppe D zeigt eine gegenüber den Kontrollen erniedrigte Suppressorzellaktivität, wobei die Unterschiede zum Niedrigreagentencluster 2 am geringsten sind.

TABELLE 53: T-Zellsubfraktionen (%) - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe C (Abbauzeit bis 48 h)

	ITP-C/1	ITP-C/2	ITP-C/3
	p <	p <	p <
T-Zellen, gesamt OKT 3	0,0005	0,0005	0,03
T-Helferzellen OKT 4	0,0005	0,0005	0,001
T-Suppressor- und zyto- toxische T-Zellen OKT 8	n.s.	n.s.	n.s.
OKT 4/8	0,05	0,03	n.s.

Der prozentuale Anteil der T- und T-Helferzellen an den Blutlymphozyten sowie das T4/8-Verhältnis sind bei der ITP-Gruppe C gegenüber den Kontrollen erniedrigt, der prozentuale Suppressor-/Effektorzellanteil dagegen ist kontrollgruppen-analog.

TABELLE 54: T-Zellsubfraktionen (%) - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

	ITP-D/1	ITP-D/2	ITP-D/3
	p <	p <	p <
T-Zellen, gesamt OKT 3	0,0005	0,0005	0,001
T-Helferzellen OKT 4	0,0005	0,0005	0,005
T-Suppressor- und zy- totoxische T-Zellen OKT 8	0,001	0,001	0,0005
OKT 4/8	n.s.	n.s.	n.s.

Bei der ITP-Gruppe D ist der prozentuale Anteil von T-, T-Helfer- und T-Suppressor-/T-Effektorzellen an den Blut-lymphozyten gegenüber den Kontrollclustern signifikant erniedrigt. Das T4/8-Verhältnis ist kontrollgruppenanalog.

TABELLE 55: T-Zellsubfraktionen (absolut/ μ l) - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe C (Abbauzeit bis 48 h)

	ITP-C/1	ITP-C/2	ITP-C/3
	p <	p <	p <
Lymphozyten	0,005	0,0005	0,001
T-Zellen	0,0005	0,0005	0,0005
T-Helferzellen	0,0005	0,0005	0,0005
T-Suppressor-/Effektorzellen	0,0005	0,0005	0,0005

Die Lymphozyten-, T-Zell-, T-Helfer- und T-Suppressor-/T-Effektorzellzahlen pro Mikroliter peripheren Blutes sind bei der ITP-Untergruppe C gegenüber allen Kontrollclustern signifikant erniedrigt.

TABELLE 56: T-Zellsubfraktionen (absolut/ μ l) - Signifikanz der Unterschiede zwischen den Kontrollclustern und der ITP-Gruppe D (Abbauzeit 3 - 7 Tage)

	ITP-D/1	ITP-D/2	ITP-D/3
	p <	p <	p <
Lymphozyten	0,01	0,001	0,001
T-Zellen	0,0005	0,0005	0,0005
T-Helferzellen	0,0005	0,0005	0,0005
T-Suppressor-/Effektorzellen	0,0005	0,0005	0,0005

Die Lymphozyten-, T-Zell-, T-Helfer- und T-Suppressor-/T-Effektorzellzahlen pro Mikroliter peripheren Blutes sind bei der ITP-Gruppe D gegenüber allen drei Kontrollclustern signifikant erniedrigt.

TABELLE 1A: HLA-Genverteilung (%) - Gesamtkontrollkollektiv (n = 88)

A	1	25%	Bw	17	5%
A	2	45%	Bw	18	8%
A	3	32%	Bw	21	1%
A	9	20%	Bw	22	3%
A	10	7%	B	27	3%
A	11	11%	Bw	35	22%
A	28	6%	Bw	37	3%
A	29	11%	Bw	40	16%
Aw	30	5%	Bw	53	1%
A	-	41%	B	-	31%
B	5	13%	Cw	1	1%
B	7	26%	Cw	2	3%
B	8	13%	Cw	3	15%
B	12	23%	Cw	4	17%
B	13	9%	Cw	5	3%
B	14	7%	Cw	6	2%
Bw	15	8%	Cw	7	2%
Bw	16	9%	Cw	-	95%

TABELLE 2A: HLA-Genverteilung (%) und relatives Risiko (rR) - Mittelhochreagentencluster 1 (n = 18)

A	1	22%	0,8	Bw	17	6%	1,3
A	2	33%	0,5	Bw	18	6%	0,6
A	3	28%	0,5	Bw	21	0%	0,0
A	9	22%	1,1	Bw	22	0%	0,0
A	10	6%	0,8	B	27	6%	2,0
A	11	11%	1,0	Bw	35	22%	1,0
A	28	11%	2,8	Bw	37	0%	0,0
A	29	11%	1,6	Bw	40	17%	1,1
Aw	30	11%	4,3	Bw	53	5%	4,1
A	-	44%	1,2	B	-	39%	1,6
B	5	0%	0,0	Cw	1	0%	0,0
B	7	28%	1,1	Cw	2	6%	4,0
B	8	11%	0,8	Cw	3	17%	1,2
B	12	33%	2,0	Cw	4	28%	1,7
B	13	17%	2,6	Cw	5	6%	2,0
B	14	6%	0,7	Cw	6	6%	3,8
Bw	15	6%	0,6	Cw	7	0%	0,0
Bw	16	0%	0,0	Cw	-	89%	1,1

TABELLE 3A: HLA-Genverteilung (%) und relatives Risiko (rR) - Niedrigreagentencluster 2 (n = 49)

A	1	22%	0,7	Bw	17	4%	0,8
A	2	49%	1,4	Bw	18	10%	2,1
A	3	35%	1,4	Bw	21	0%	0,0
A	9	27%	2,5	Bw	22	6%	2,5
A	10	9%	1,6	B	27	4%	1,6
A	11	11%	0,5	Bw	35	18%	0,7
A	28	4%	0,9	Bw	37	6%	2,5
A	29	8%	1,1	Bw	40	14%	0,8
Aw	30	2%	0,3	Bw	53	0%	0,0
A	-	37%	0,6	B	-	29%	0,8
B	5	12%	1,0	Cw	1	0%	0,0
B	7	25%	0,8	Cw	2	4%	1,0
B	8	6%	0,2	Cw	3	12%	0,6
B	12	25%	1,2	Cw	4	25%	1,8
B	13	4%	0,2	Cw	5	2%	0,5
B	14	10%	4,4	Cw	6	2%	0,8
Bw	15	10%	2,1	Cw	7	2%	0,8
Bw	16	16%	7,0	Cw	-	97%	0,7

TABELLE 4A: HLA-Genverteilung (%) und relatives Risiko
(rR) - Hochreagentencluster 3 (n = 21)

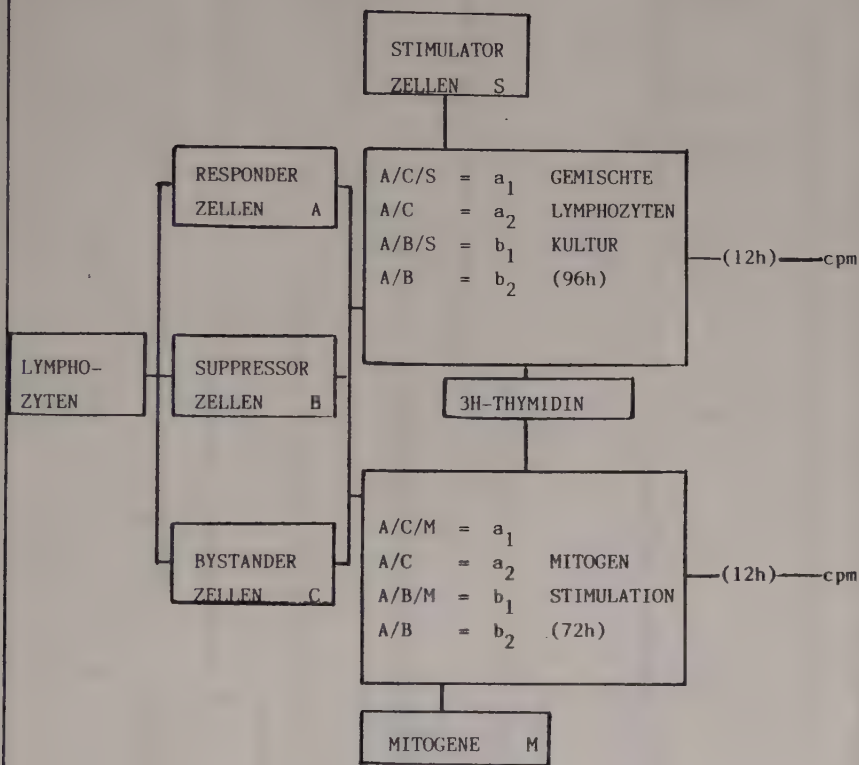
A	1	33%	1,7	Bw	17	5%	1,1
A	2	48%	1,1	Bw	18	5%	0,5
A	3	29%	0,8	Bw	21	5%	3,4
A	9	5%	0,6	Bw	22	0%	0,0
A	10	5%	0,6	B	27	0%	0,0
A	11	19%	1,8	Bw	35	29%	1,7
A	28	5%	0,8	Bw	37	0%	0,0
A	29	5%	0,5	Bw	40	19%	1,3
Aw	30	5%	1,1	Bw	53	0%	0,0
A	-	48%	1,4	B	-	29%	0,9
B	5	24%	3,2	Cw	1	5%	3,4
B	7	29%	1,2	Cw	2	0%	0,0
B	8	29%	5,0	Cw	3	19%	1,6
B	12	10%	0,3	Cw	4	5%	0,1
B	13	14%	2,1	Cw	5	5%	1,6
B	14	0%	0,0	Cw	6	0%	0,0
Bw	15	5%	0,5	Cw	7	5%	3,3
Bw	16	0%	0,0	Cw	-	95%	1,0

TABELLE 5A: HLA-Genverteilung (%) und relatives Risiko
(rR) - Immunthrombozytopenie (n = 40)

A	1	50%	3,0	Bw	17	5%	1,1
A	2	40%	0,8	Bw	18	10%	1,3
A	3	15%	0,4	Bw	21	3%	2,3
A	9	15%	0,7	Bw	22	3%	0,7
A	10	13%	2,0	B	27	13%	4,0
A	11	15%	1,4	Bw	35	25%	1,2
A	28	8%	1,3	Bw	37	0%	0,0
A	29	0%	0,0	Bw	40	15%	0,9
Aw	30	0%	0,0	Bw	53	0%	0,0
A	-	33%	0,7	B	-	18%	0,5
B	5	13%	1,0	Cw	1	0%	0,0
B	7	13%	0,4	Cw	2	18%	6,0
B	8	38%	4,2	Cw	3	3%	0,1
B	12	25%	1,1	Cw	4	28%	1,5
B	13	3%	0,3	Cw	5	3%	2,3
B	14	3%	0,4	Cw	6	0%	0,0
Bw	15	8%	1,0	Cw	7	3%	1,1
Bw	16	3%	0,3	Cw	-	90%	0,4

9. ABBILDUNGEN

ABBILDUNG 1: Suppressorzellassay



Abkürzungen: A = Responderzellen; B = Suppressorzellen; C = Bystanderzellen; M = Mitogene; S = Stimulatorzellen; a_1 = Responderzellen in Gegenwart allogener Stimulatorzellen oder Mitogene und autologer Bystanderzellen; a_2 = Responderzellen in Gegenwart autologer Bystanderzellen allein; b_1 = Responderzellen in Gegenwart autologer Concanavalin A-behandelter Blutlymphozyten und allogener Stimulatorzellen oder Mitogene; b_2 = Responderzellen in Gegenwart autologer Concanavalin A-behandelter Blutlymphozyten (Suppressorzellen) allein; cpm = counts/min.

(Counts/min)

40 000

30 000

20 000

15 000

10 000

5000

— $p < 0,01$

KONTROLLEN

ITP

ABBILDUNG 2: Lymphozytenreaktivität auf Varidase - Immuthrombozytopenie (ITP): Lymphozyten von ITP-Patienten reagieren auf Varidase signifikant niedriger als die der Kontrollen.

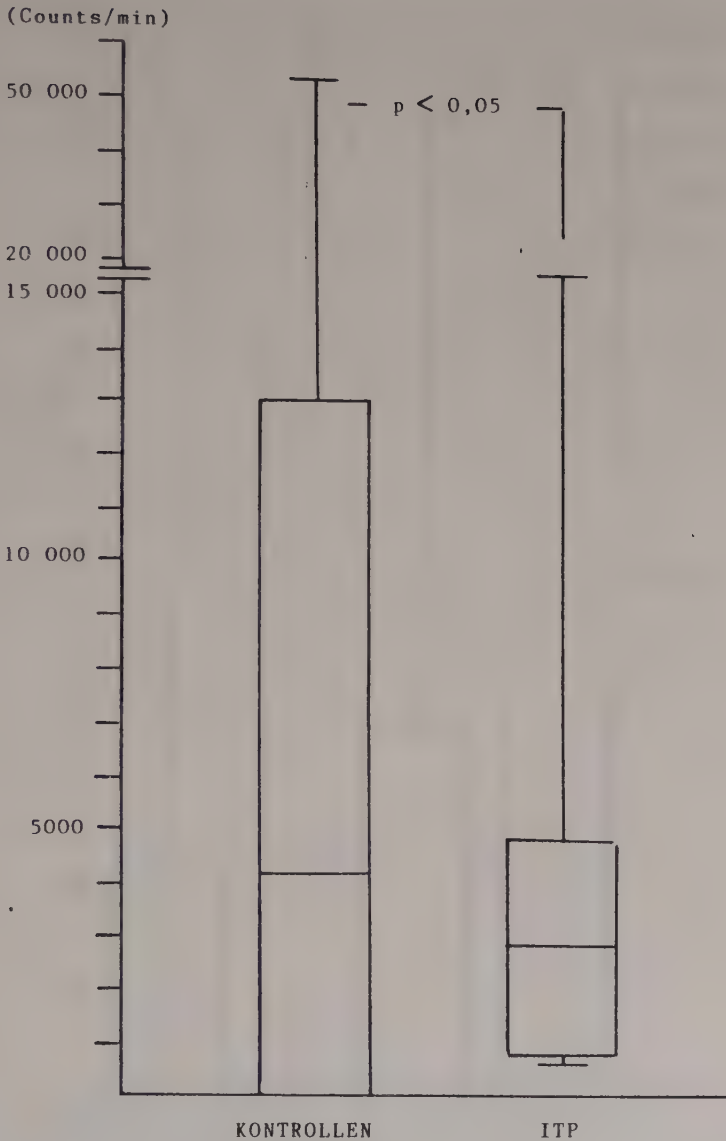


ABBILDUNG 3: Lymphozytenreaktivität auf Vacciniaantigen - Immunthrombozytopenie (ITP): Lymphozyten von ITP-Patienten reagieren auf Vacciniaantigen signifikant schwächer als die der gesunden Kontrollen.

(Counts/min)

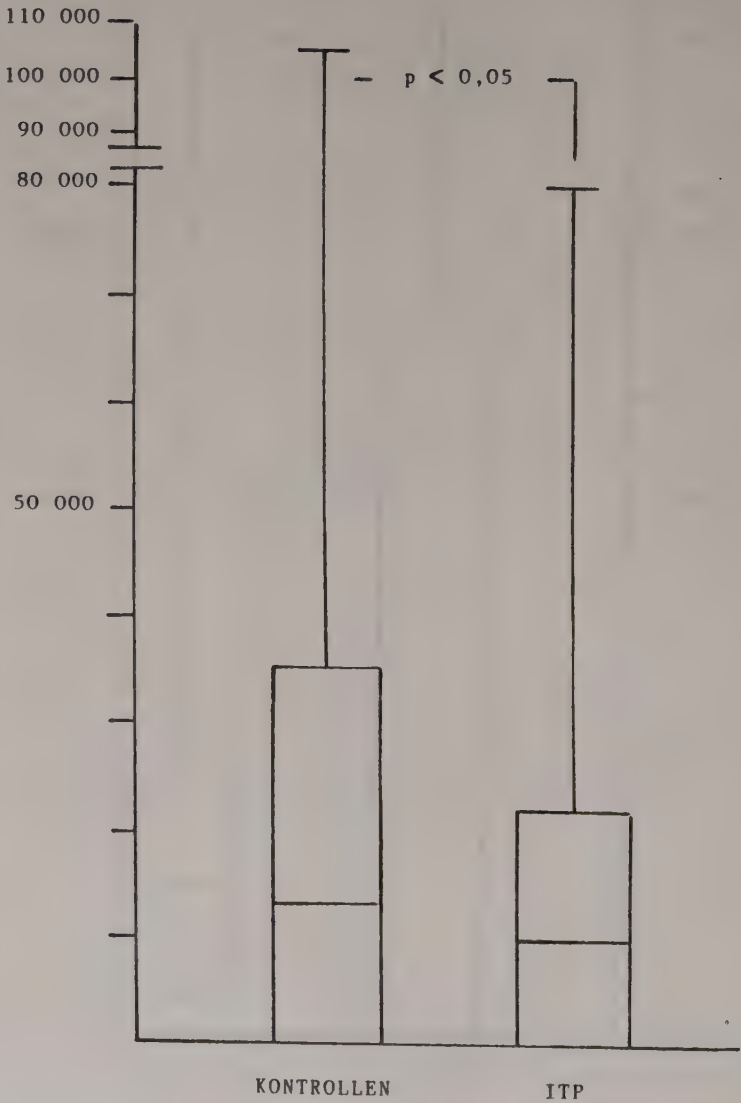


ABBILDUNG 4: Lymphozytenreaktivität auf den Antigencocktail - Immunthrombozytopenie (ITP): Lymphozyten von ITP-Patienten reagieren auf den Antigencocktail signifikant niedriger als die der gesunden Kontrollen.

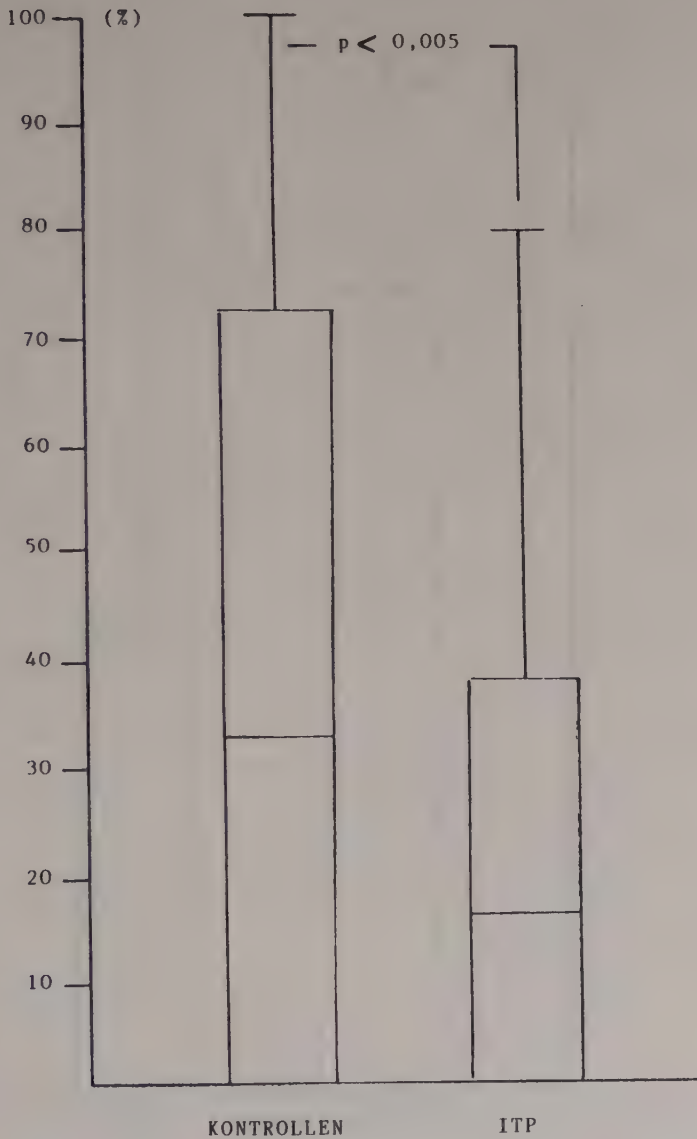


ABBILDUNG 5: Suppressorzellaktivität (%) - Immunthrombozytopenie (ITP) (Protein A): Patienten mit ITP zeigen im Protein A-Testsystem eine gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität.

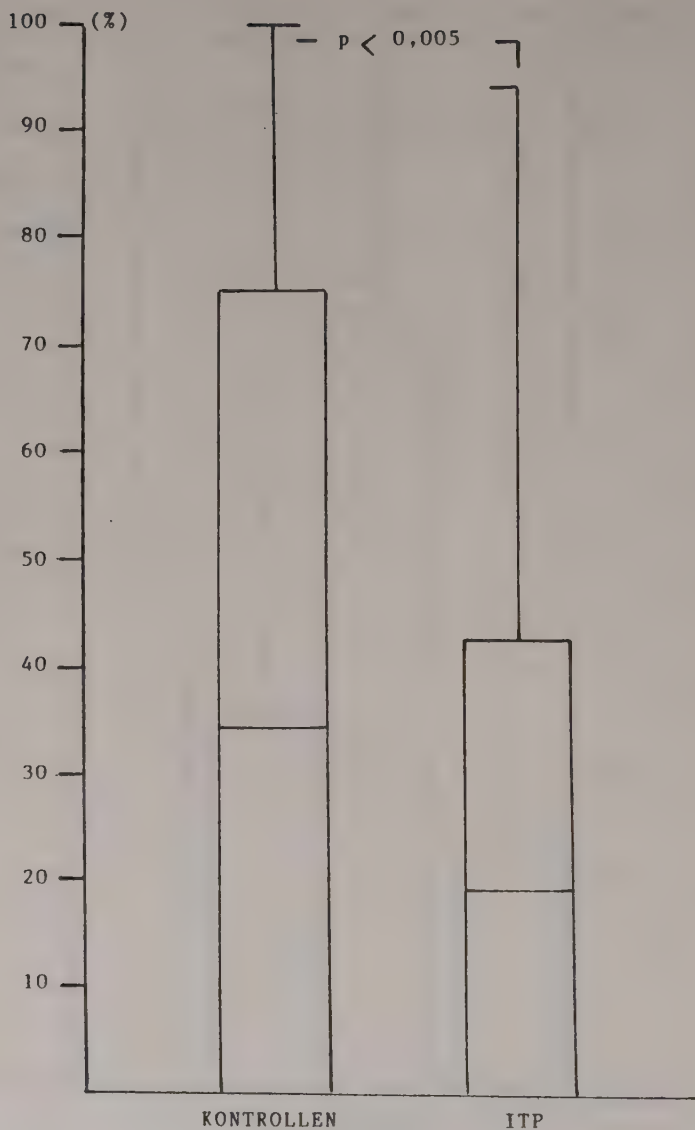


ABBILDUNG 6: Suppressorzellaktivität (%) - Immunthrombozytopenie (ITP) (Pokeweed-Mitogen-Testsystem): ITP-Patienten zeigen eine gegenüber gesunden Kontrollen signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität.

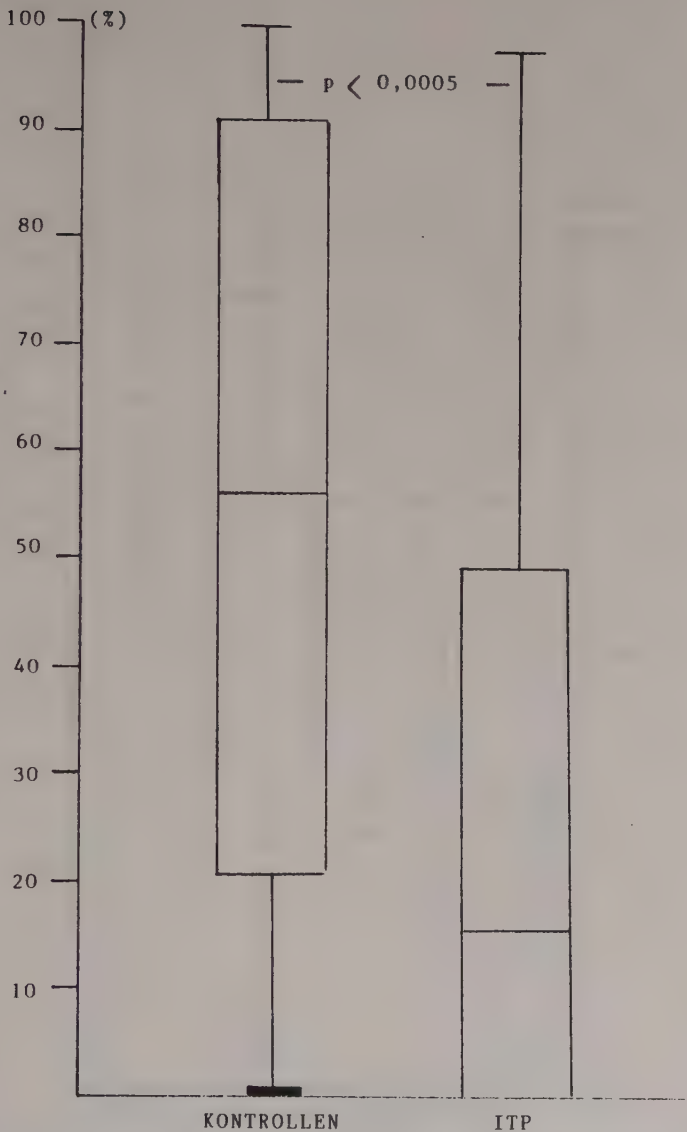


ABBILDUNG 7: Suppressorzellaktivität (%) - Immunthrombozytopenie (ITP) (Gemischte Lymphozytenkultur): ITP-Patienten zeigen in der gemischten Lymphozytenkultur eine gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigte Suppressorzellaktivität.

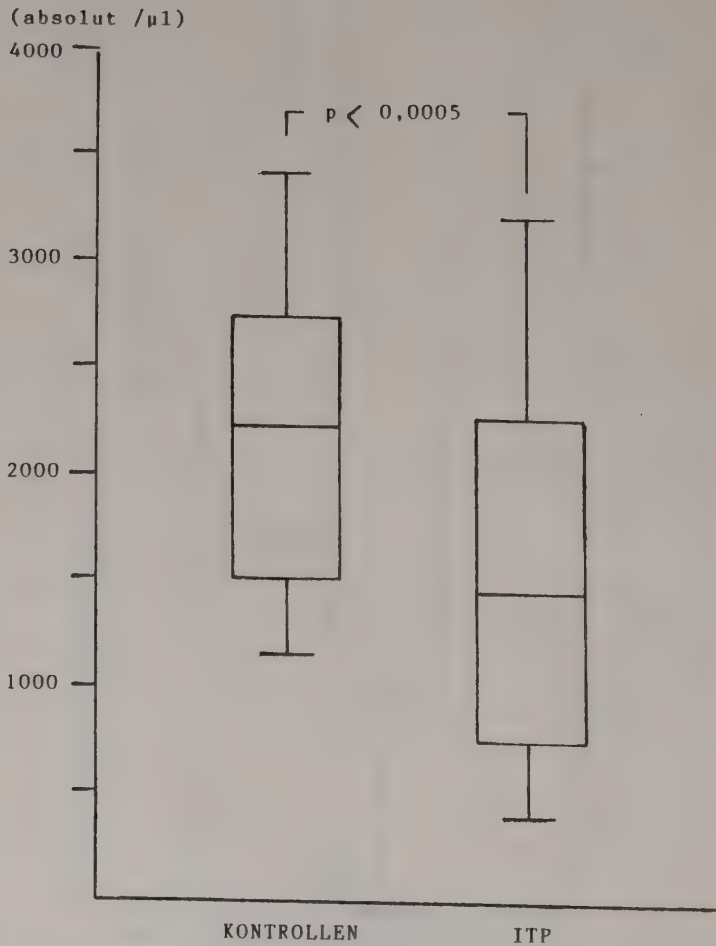


ABBILDUNG 8: Lymphozyten (absolut/ μ l) - Immunthrombozytopenie (ITP): Bei ITP-Patienten ist die Lymphozytenzahl pro Mikroliter peripheren Blutes gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigt.

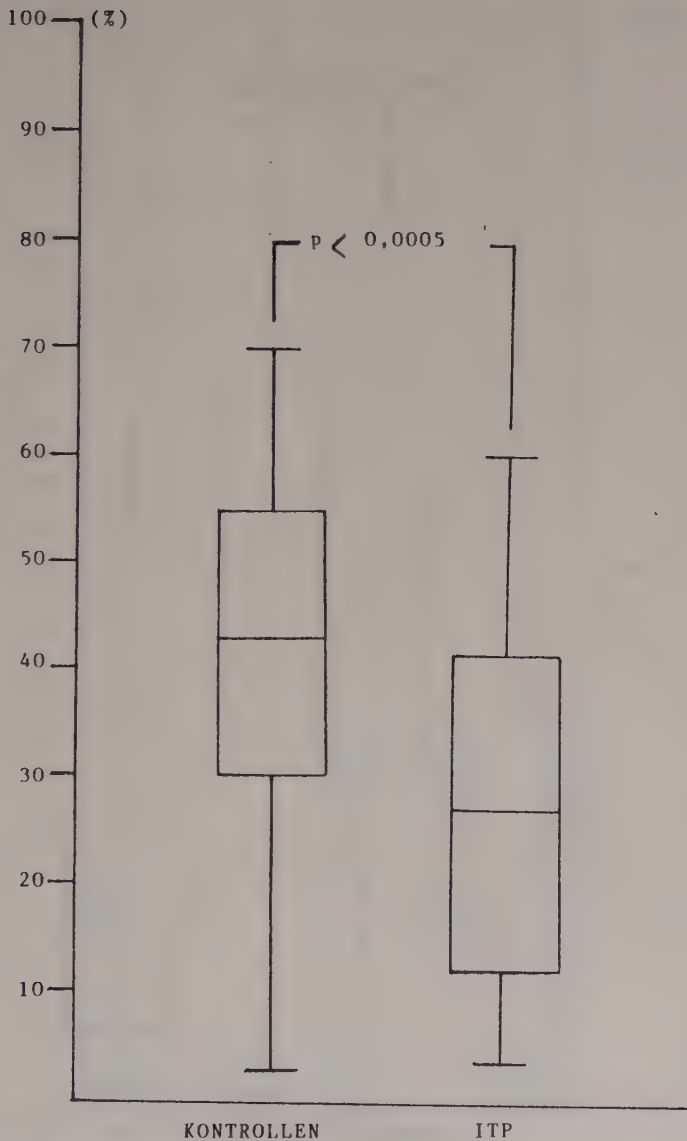


ABBILDUNG 9: T-Zellen (%) - Immunthrombozytopenie (ITP): Bei Patienten mit ITP ist der prozentuale Anteil der T-Zellen an den Lymphozyten des peripheren Blutes signifikant niedriger als beim Kontrollkollektiv.

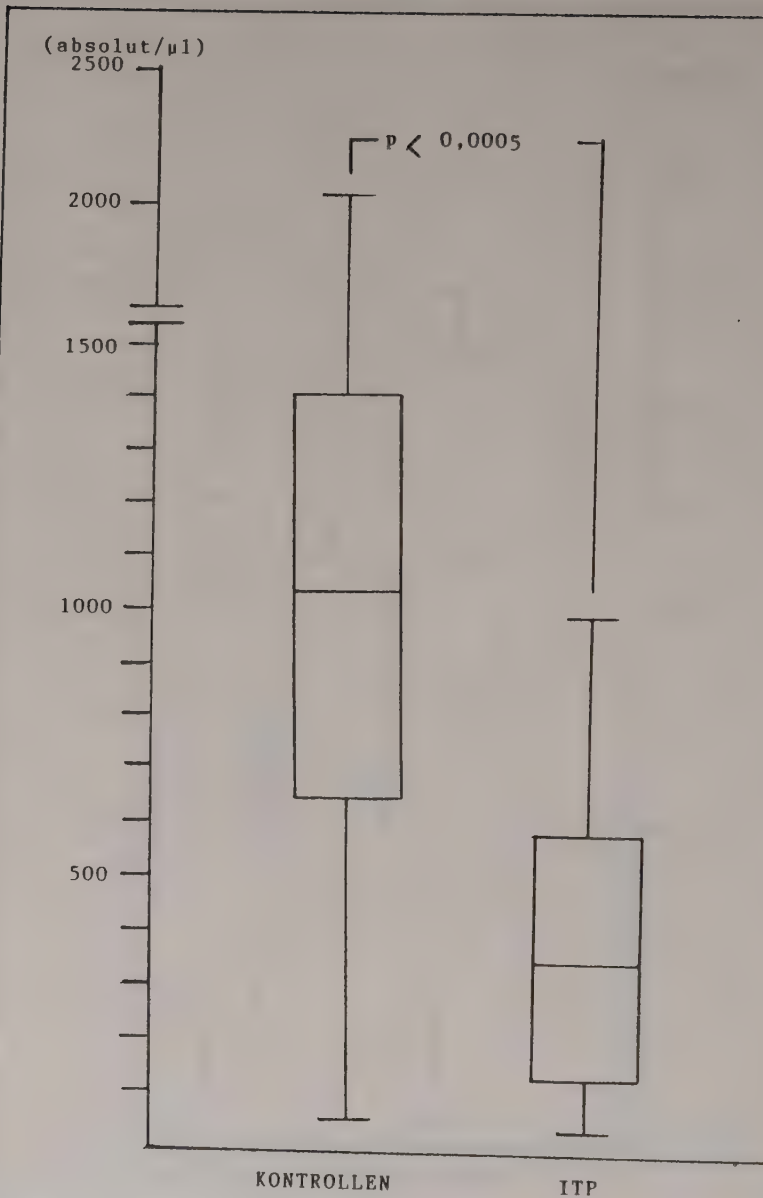


ABBILDUNG 10: T-Zellen (absolut/ μ l) - Immunthrombozytopenie (ITP): Bei ITP-Patienten ist die T-Zellzahl pro Mikroliter peripheren Blutes signifikant niedriger als beim Kontrollkollektiv.

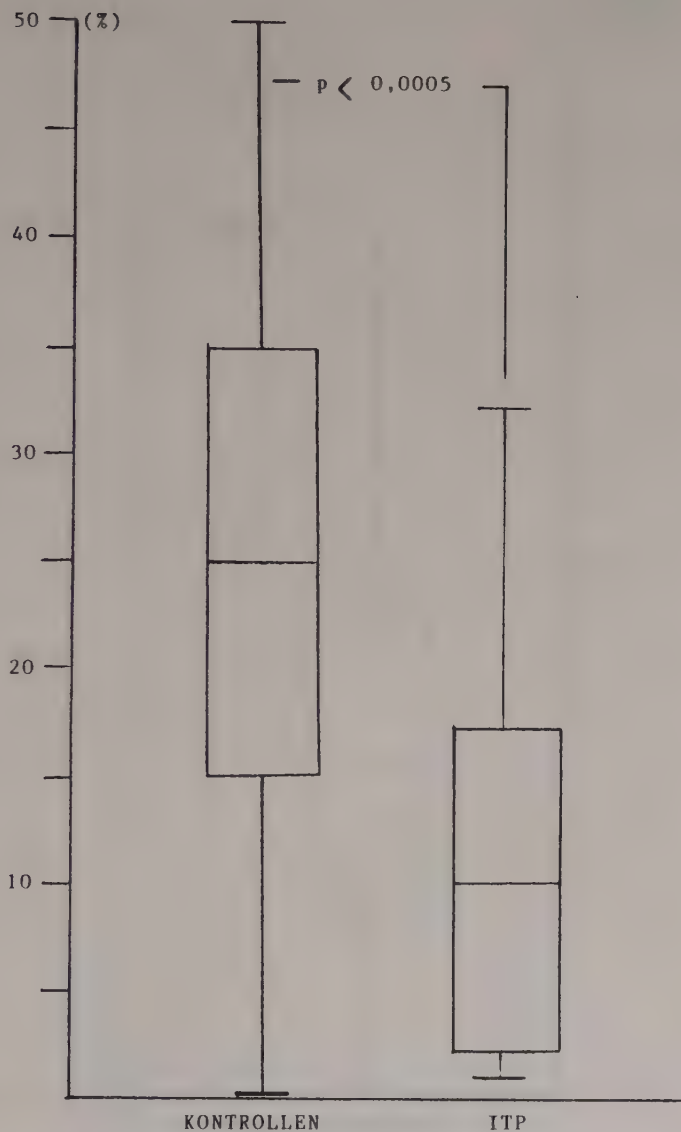


ABBILDUNG 11: T-Helferzellen (%) - Immunthrombozytopenie (ITP): Bei Patienten mit ITP ist der prozentuale Anteil der T-Helferzellen an den Lymphozyten des peripheren Blutes signifikant niedriger als beim Kontrollkollektiv.

(absolut/ μ l)

2000

1500

1000

500

 $p < 0,0005$

KONTROLLEN

ITP

ABBILDUNG 12: T-Helferzellen (absolut/ μ l) - Immunthrombozytopenie (ITP): Bei ITP-Patienten ist die T-Helferzellzahl pro Mikroliter peripheren Blutes signifikant niedriger als die der Kontrollen.

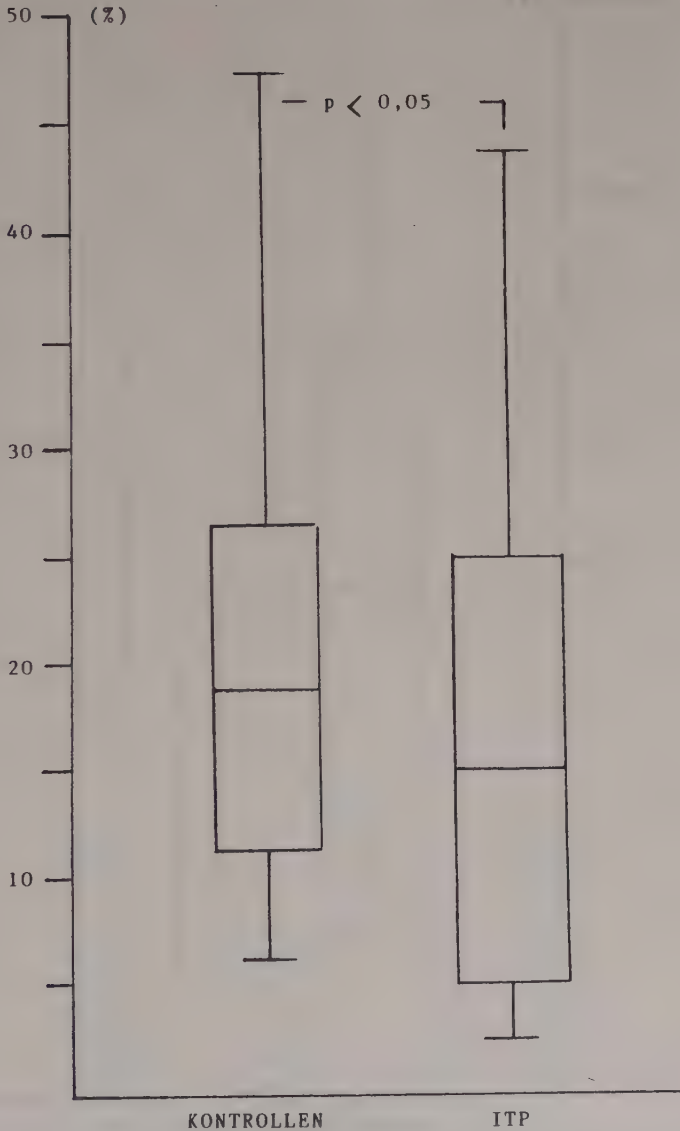


ABBILDUNG 13: T-Suppressorzellen und zytotoxische T-Zellen (%) - Immunthrombozytopenie (ITP): Bei ITP-Patienten ist der prozentuale Anteil der T-Suppressorzellen und der zytotoxischen T-Zellen an den Lymphozyten des peripheren Blutes signifikant niedriger als bei den Kontrollen.

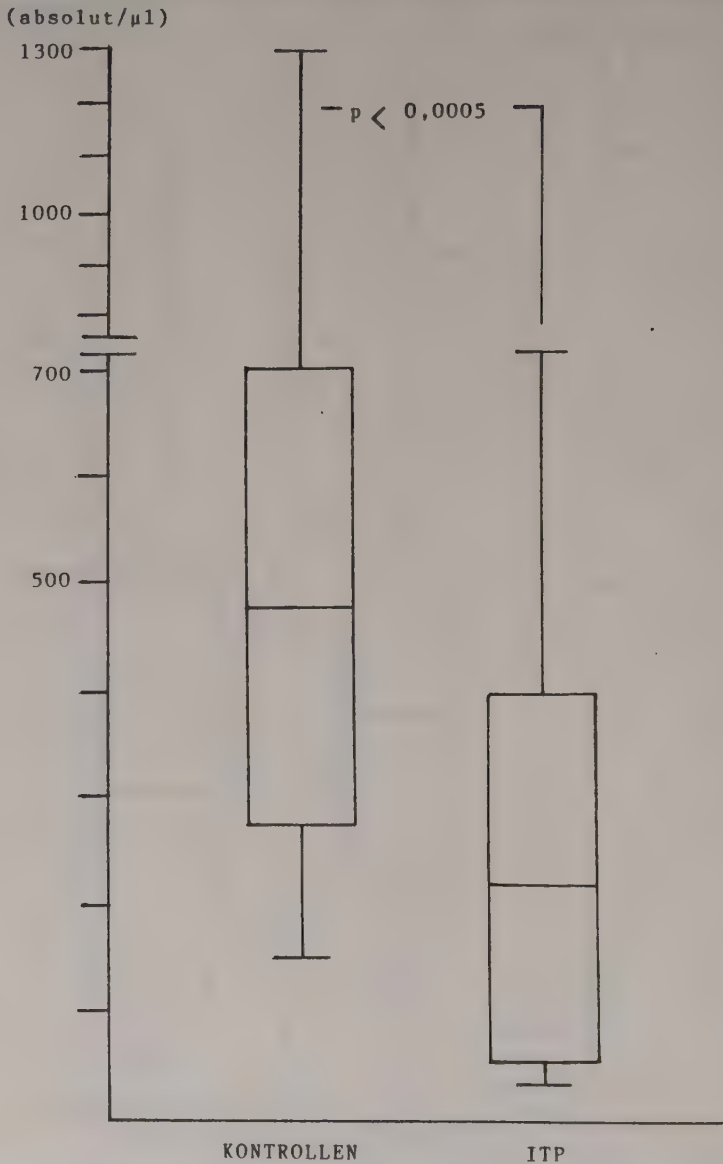


ABBILDUNG 14: Suppressorzellen und zytotoxische T-Zellen (absolut/ μ l) - Immunthrombozytopenie (ITP): ITP-Patienten besitzen pro Mikroliter peripheren Blutes signifikant weniger Suppressor- und zytotoxische T-Zellen als die gesunden Kontrollen.

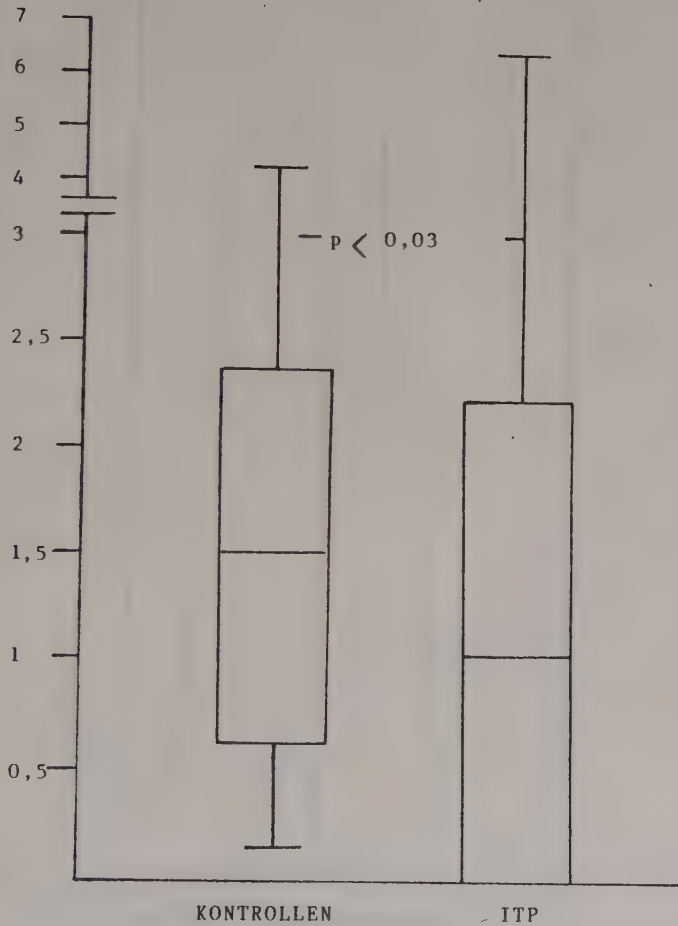


ABBILDUNG 15: T4/8-Verhältnis - Immunthrombozytopenie (ITP): ITP-Patienten haben ein gegenüber Kontrollen erniedrigtes T4/8-Verhältnis.

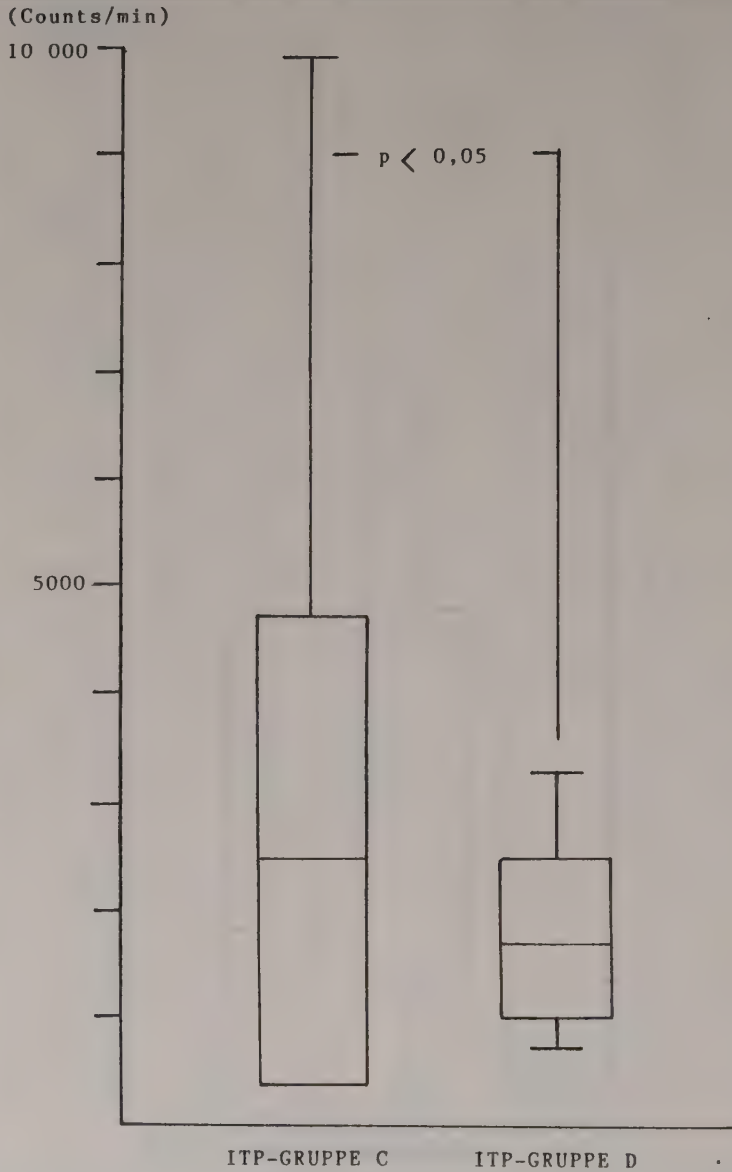


ABBILDUNG 16: Lymphozytenreaktivität auf Protein A - ITP-Untergruppen C und D: Lymphozyten der Gruppe D reagieren auf Protein A signifikant niedriger als die der Gruppe C.

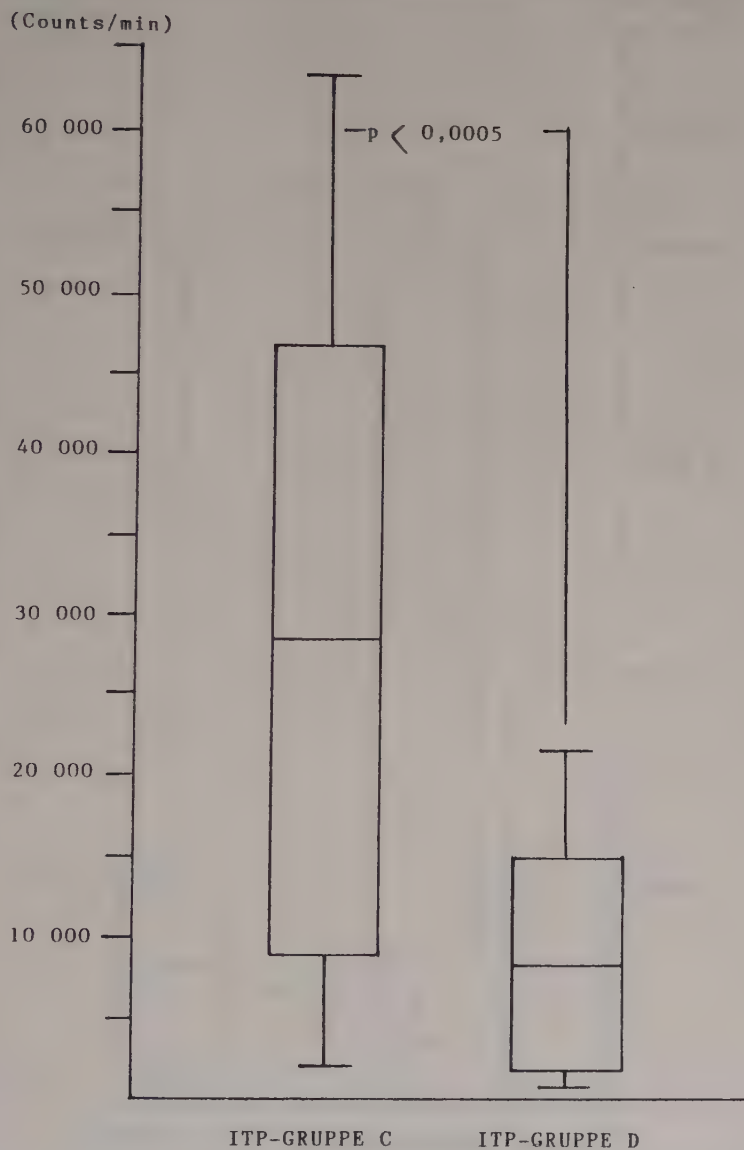


ABBILDUNG 17: Lymphozytenreaktivität auf Concanavalin A (25 µg) - ITP-Untergruppen C und D: Lymphozyten der Gruppe D reagieren auf Concanavalin A (25 µg) signifikant niedriger als die der Gruppe C.

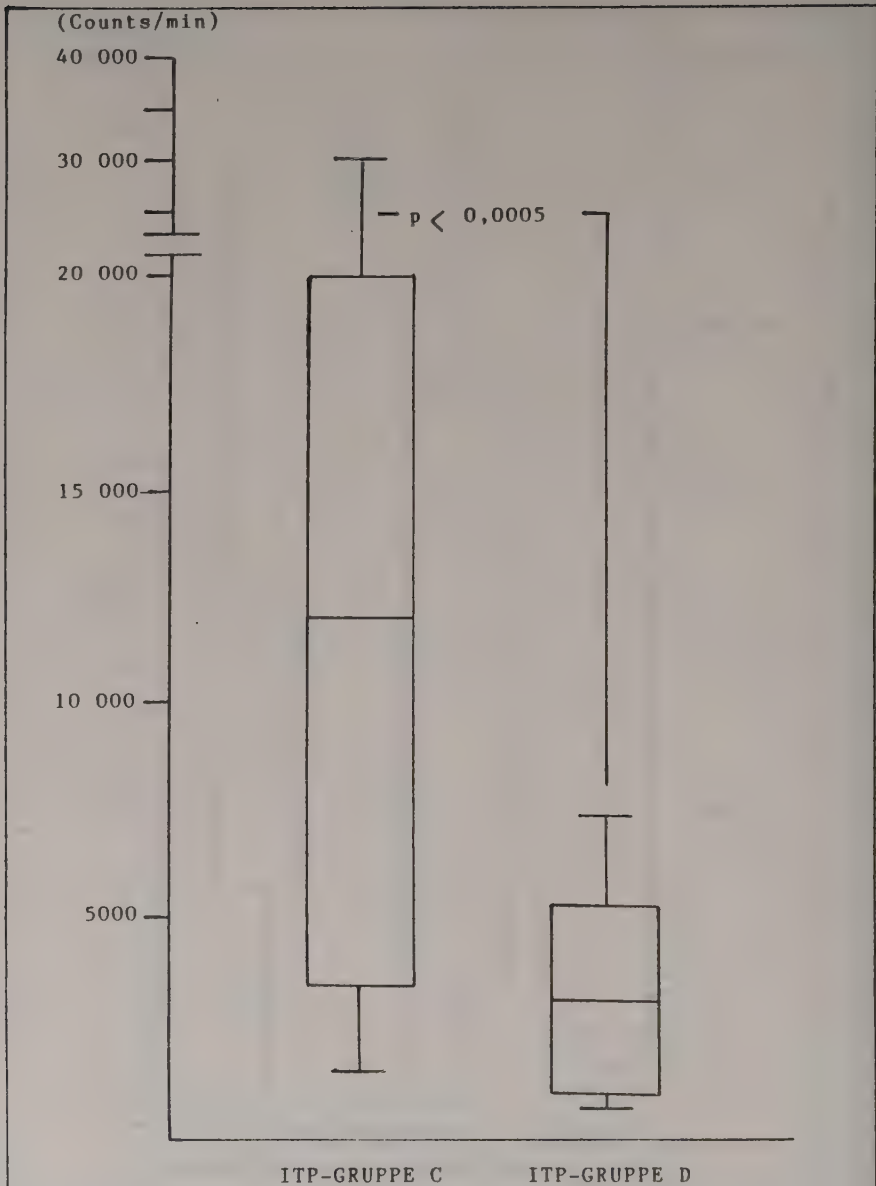


ABBILDUNG 18: Lymphozytenreaktivität auf Concanavalin A (12,5 μ g) - ITP-Untergruppen C und D: Lymphozyten der Gruppe D reagieren signifikant niedriger auf Concanavalin A (12,5 μ g) als die der Gruppe C.

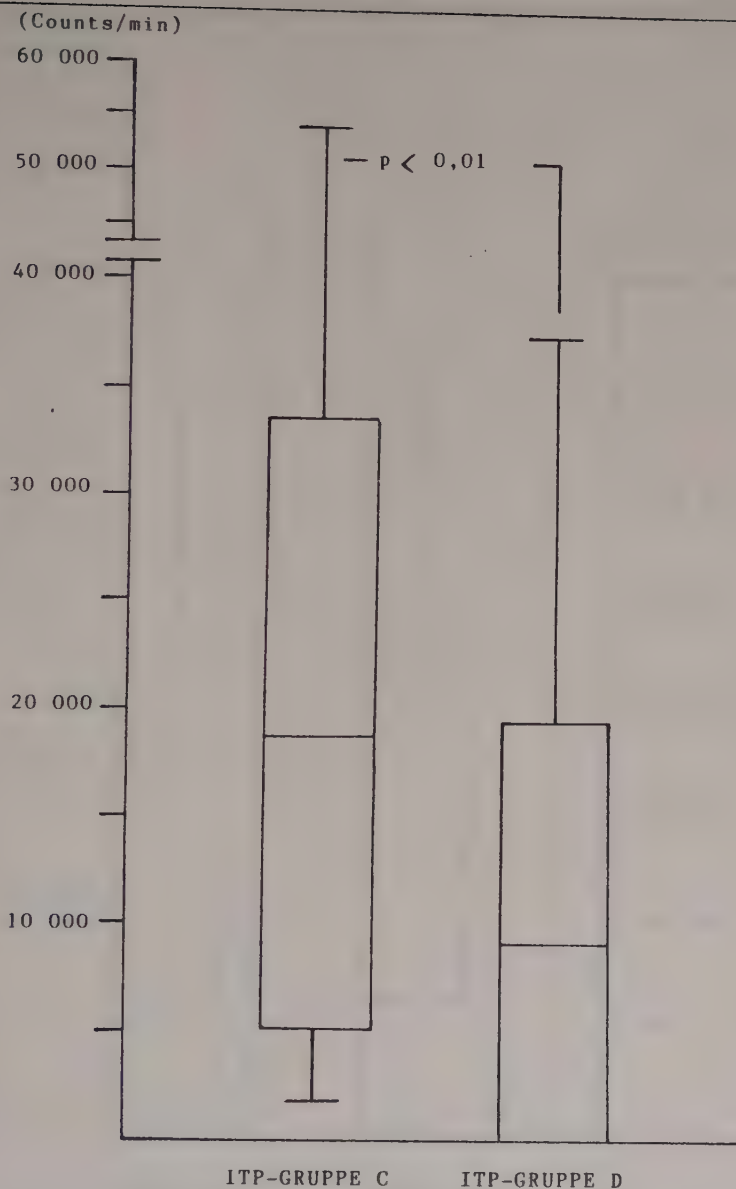


ABBILDUNG 19: Lymphozytenreaktivität auf Pokeweed Mitogen-ITP-Untergruppen C und D: Lymphozyten der Gruppe D reagieren auf Pokeweed Mitogen signifikant niedriger als die der Gruppe C.

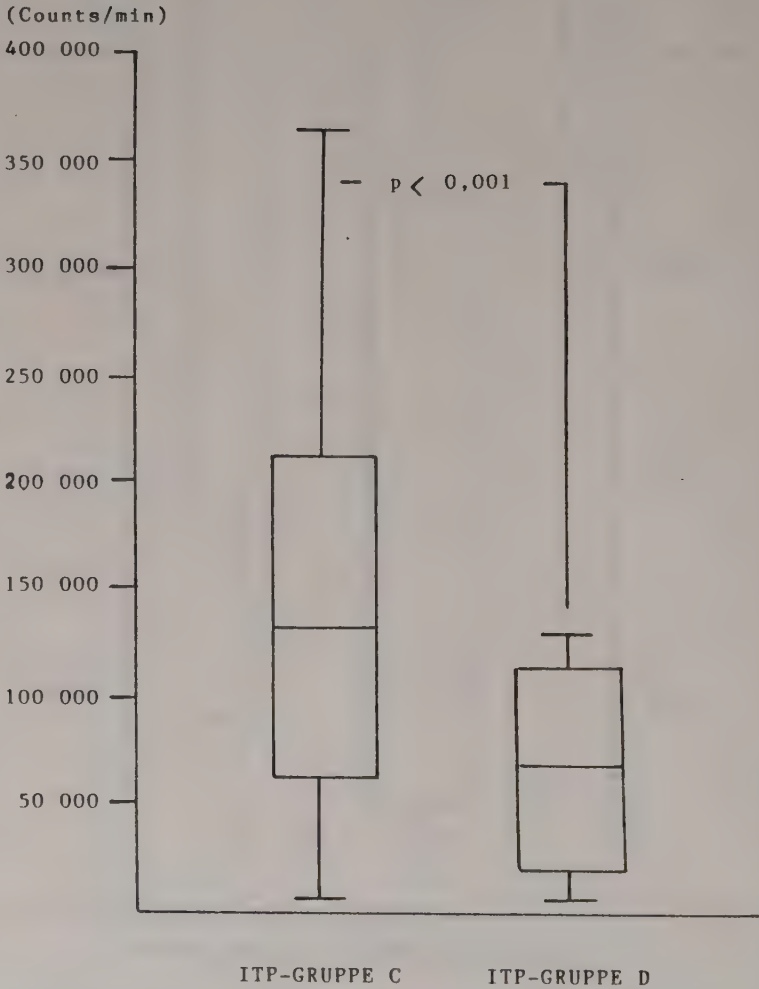


ABBILDUNG 20: Lymphozytenreaktivität auf Phytohämagglutinin-ITP-Untergruppen C und D: Lymphozyten der Gruppe D reagieren auf Phytohämagglutinin signifikant niedriger als die der Gruppe C.

(Counts/min)

100 000

50 000

45 000

40 000

30 000

20 000

10 000

 $p < 0,03$

ITP-GRUPPE C

ITP-GRUPPE D

ABBILDUNG 21: Lymphozytenreaktivität auf Tetanustoxoid - ITP-Untergruppe C und D: Lymphozyten der Gruppe D reagieren auf Tetanustoxoid signifikant niedriger als die der Gruppe C.

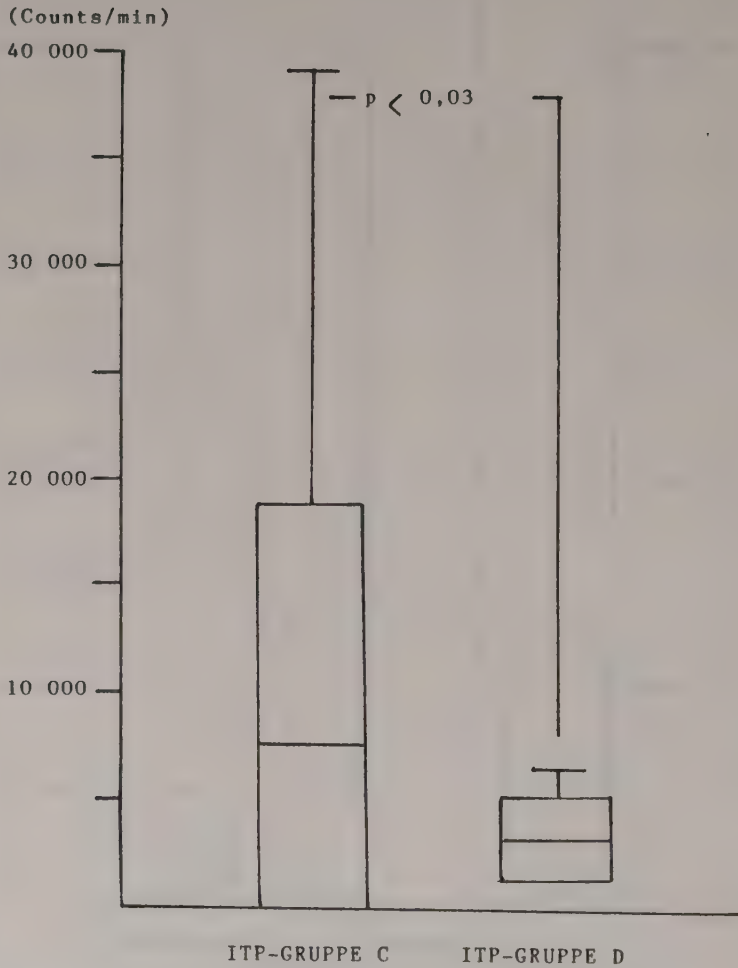


ABBILDUNG 22: Lymphozytenreaktivität auf Diphtherietoxoid - ITP-Untergruppen C und D: Lymphozyten der Gruppe D reagieren signifikant niedriger auf Diphtherietoxoid als die der Gruppe C.

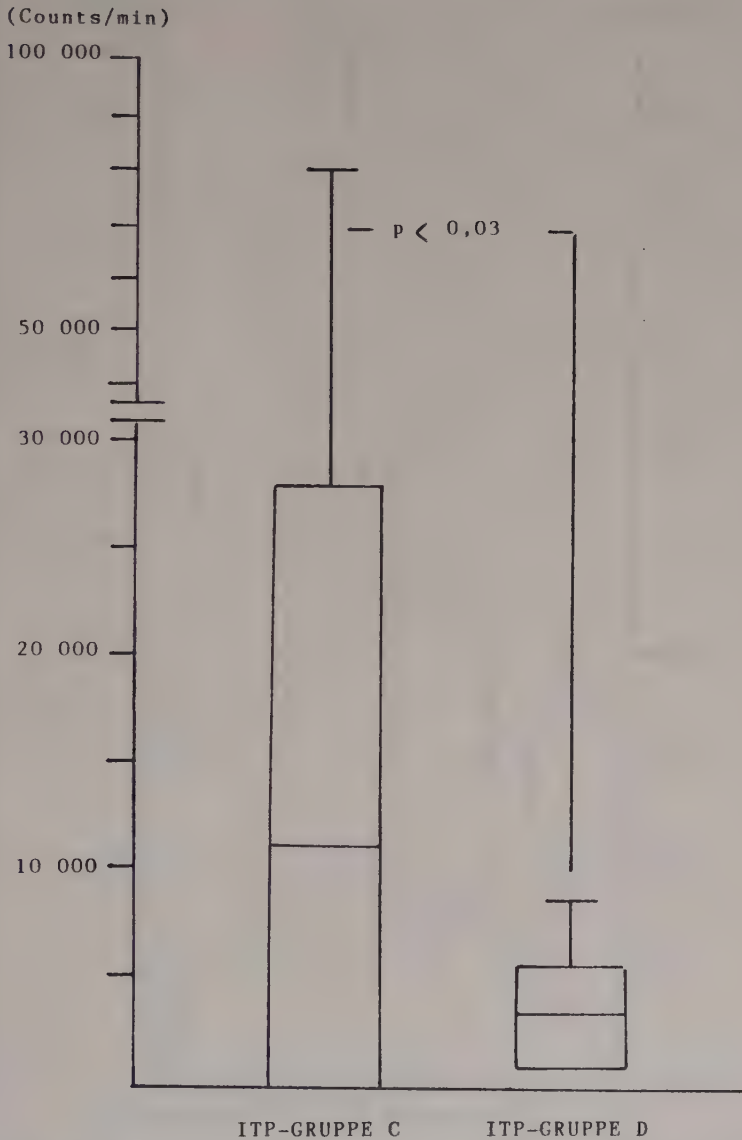


ABBILDUNG 23: Lymphozytenreaktivität auf den Antigencocktail ITP-Untergruppen C und D: Lymphozyten der Gruppe D reagieren auf den Antigencocktail signifikant niedriger als die der Gruppe C.

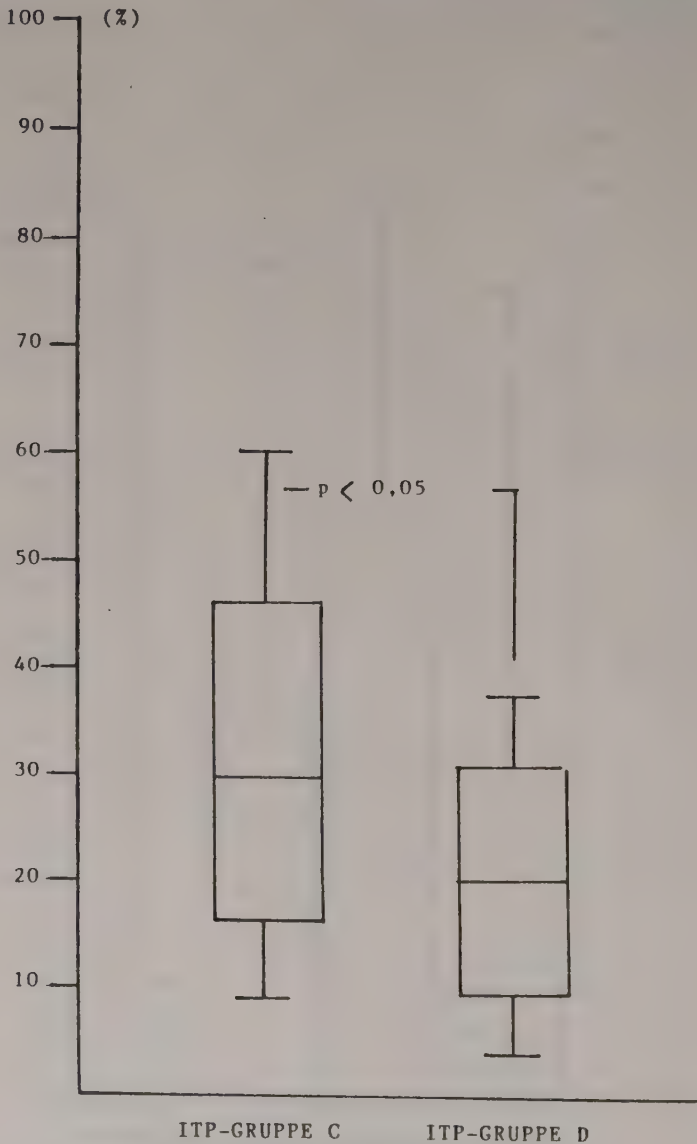


ABBILDUNG 24: T-Zellen (%) (OKT3) - ITP-Untergruppen C und D: Der prozentuale Anteil der T-Zellen an den Lymphozyten des peripheren Blutes ist bei Patienten der Gruppe D signifikant niedriger als bei denen der Gruppe C.

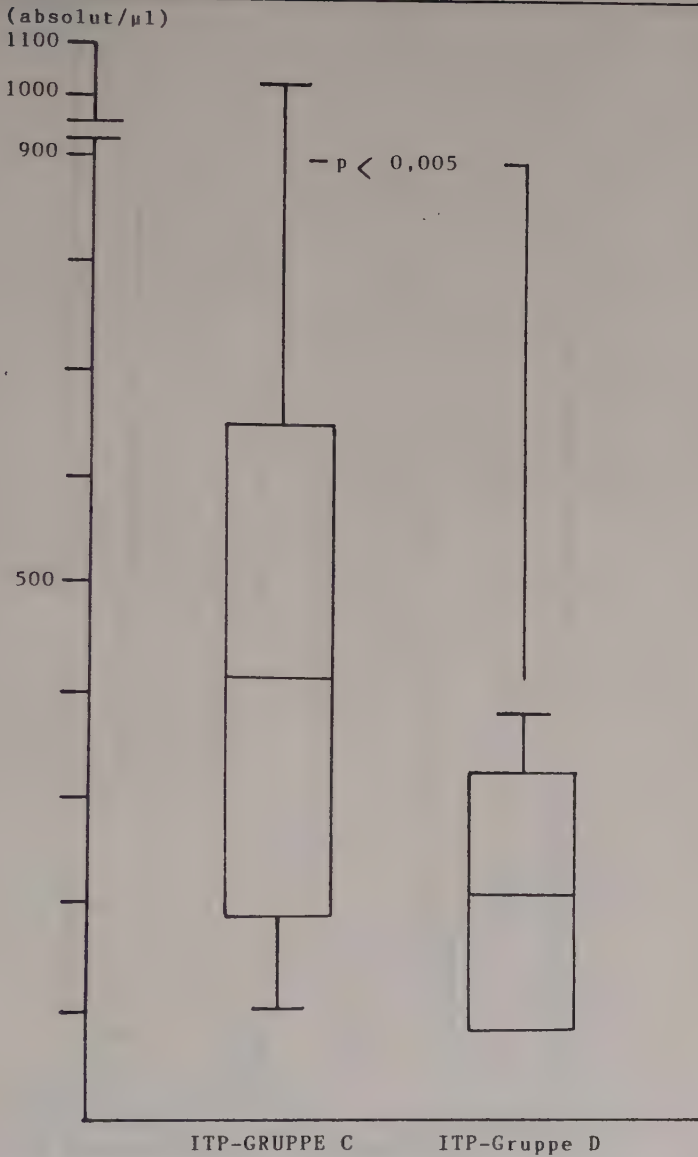


ABBILDUNG 25: T-Zellen (absolut/μl) - ITP-Untergruppen C und D: Patienten der Gruppe D weisen signifikant weniger T-Zellen pro Mikroliter peripheren Blutes auf als Patienten der Gruppe C.

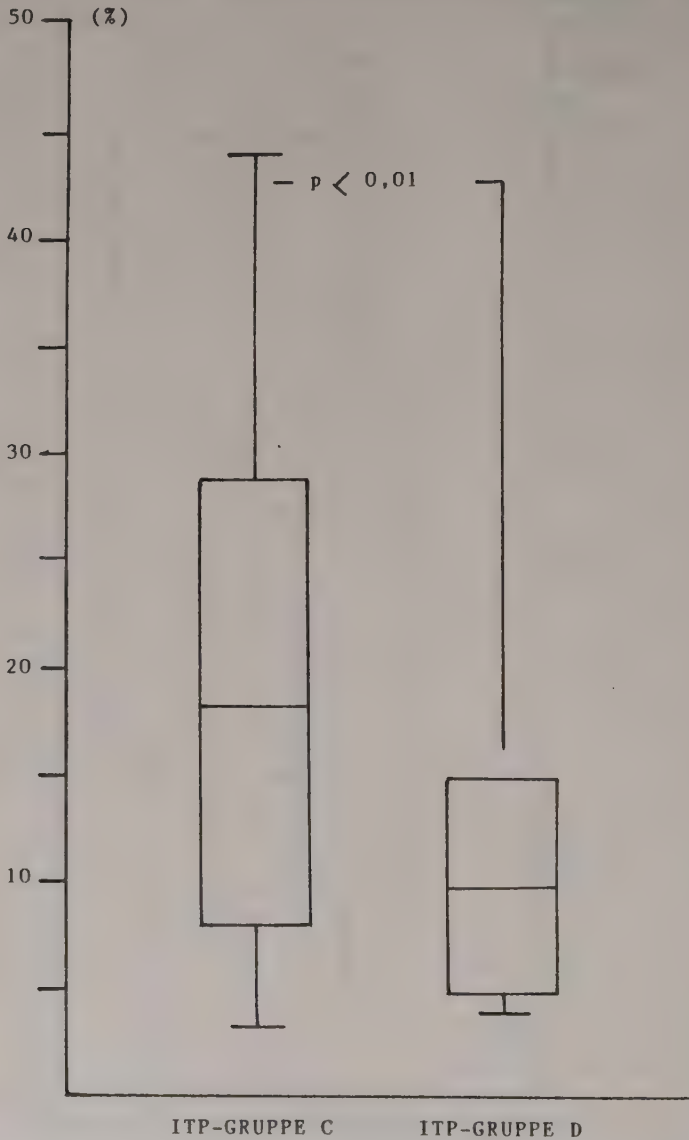


ABBILDUNG 26: T-Suppressor- und zytotoxische T-Zellen (%) (OKT 8) - ITP-Untergruppen C und D: Der prozentuale Anteil der Suppressor- und zytotoxischen T-Zellen an den Lymphozyten des peripheren Blutes ist bei Patienten der Gruppe D signifikant niedriger als bei Patienten der Gruppe C.

(absolut/ μ l)

1000

500

 $p < 0,005$

ITP-GRUPPE C

ITP-GRUPPE D

ABBILDUNG 27: Suppressor- und zytotoxische T-Zellen (absolut/ μ l) - ITP-Untergruppen C und D: Die Zahl der Suppressor- und zytotoxischen T-Zellen pro Mikroliter peripheren Blutes ist bei Patienten der Gruppe D signifikant niedriger als bei Patienten der Gruppe C.

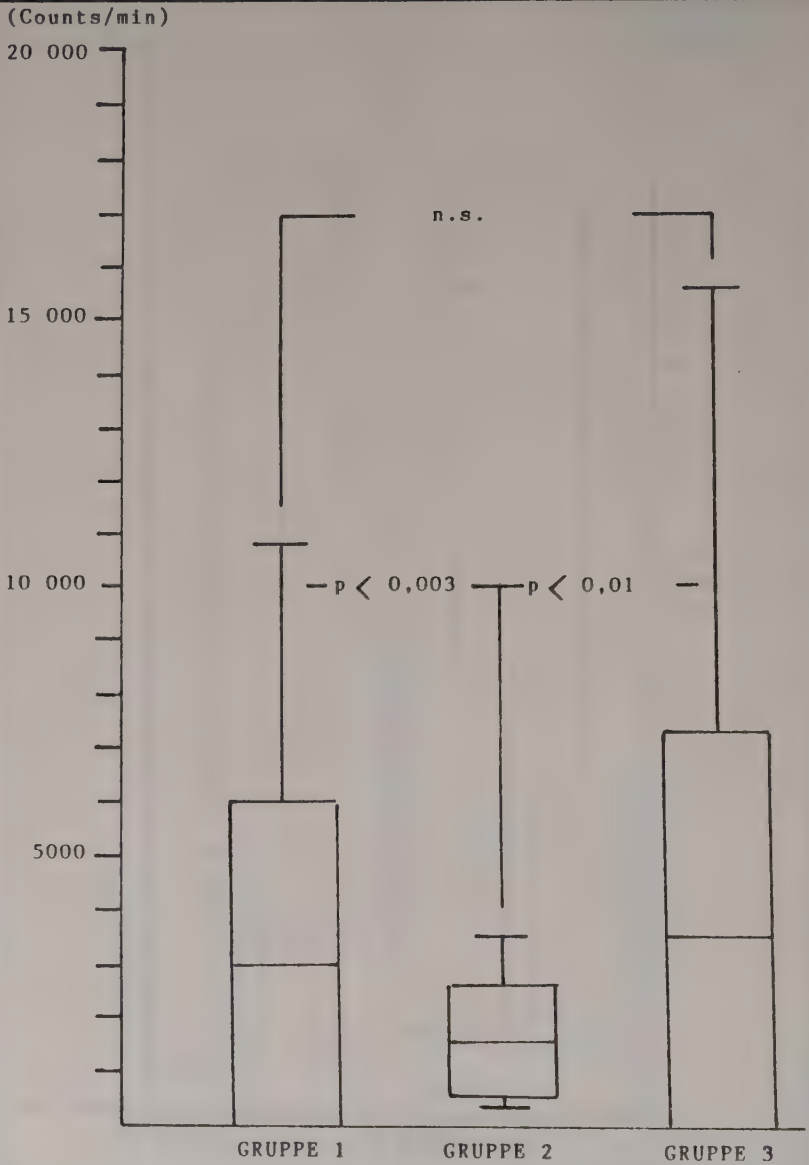


ABBILDUNG 28: Lymphozytenreaktivität auf Protein A (cpm) - Kontrollcluster: Lymphozyten von Probanden der Gruppe 2 reagieren signifikant niedriger als die der beiden anderen Gruppen, die sich ihrerseits hinsichtlich ihrer Lymphozytenreaktivität auf Protein A nicht signifikant unterscheiden.

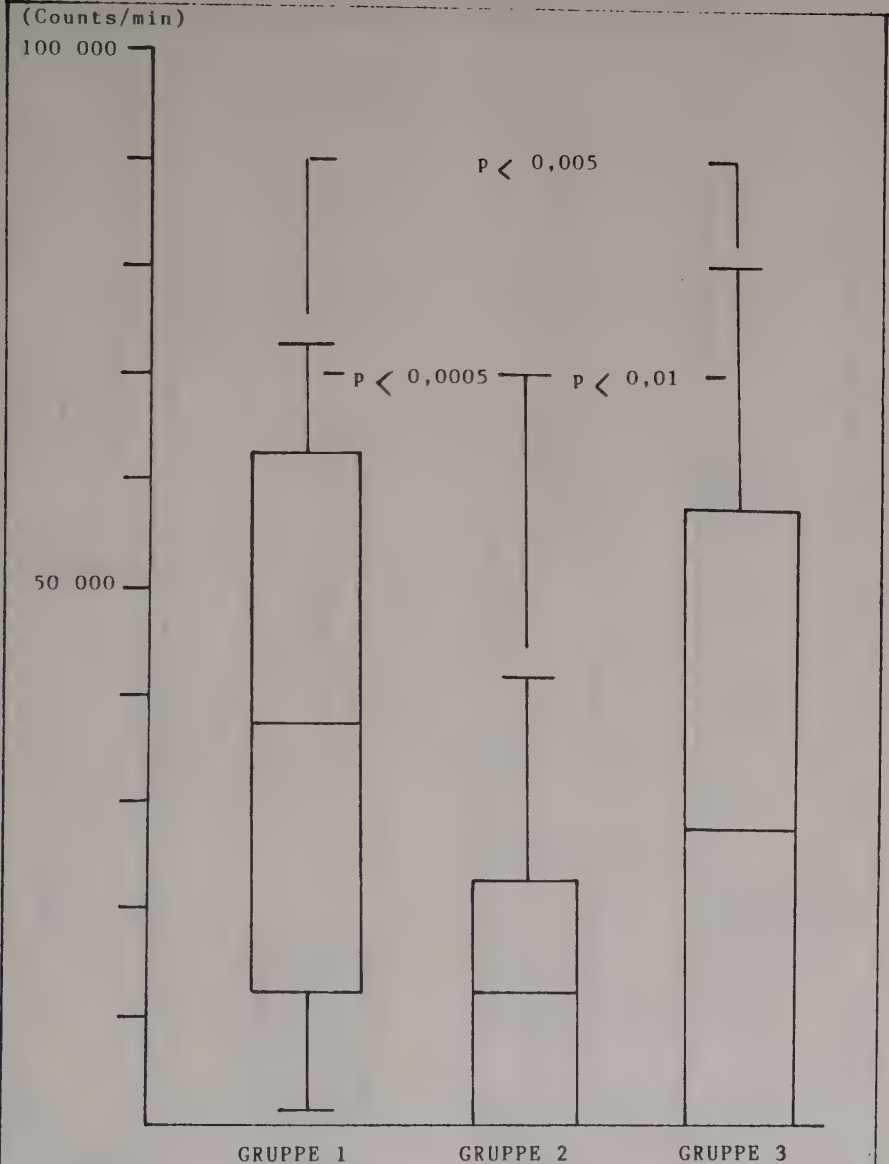


ABBILDUNG 29: Lymphozytenreaktivität auf Concanavalin A (25 µg) - Kontrollcluster: Die Lymphozytenreaktivität der drei Gruppen auf Concanavalin A (25 µg) unterscheidet sich signifikant voneinander, wobei die Reaktivität der Gruppe 2 am niedrigsten ist.

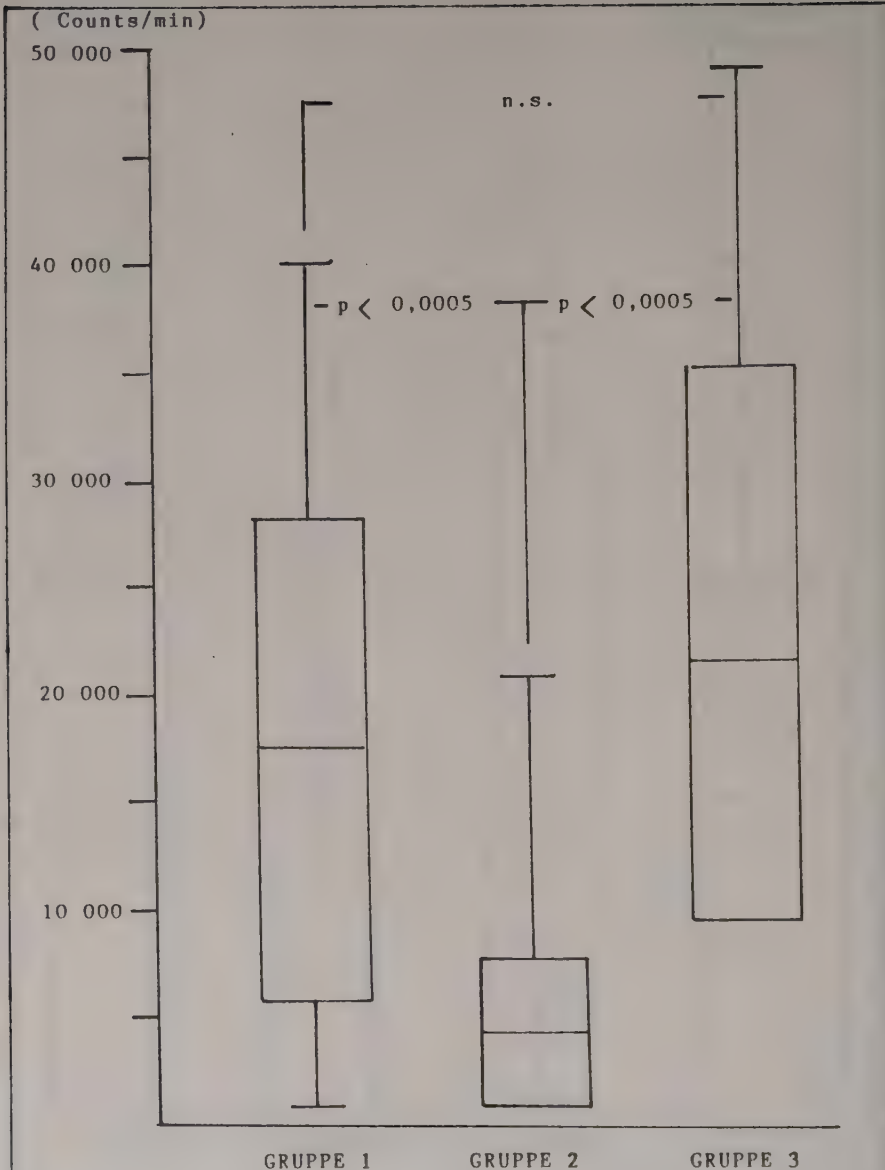


ABBILDUNG 30: Lymphozytenreaktivität auf Concanavalin A (12,5 µg) - Kontrollcluster: Die Lymphozytenreaktivität von Probanden der Gruppe 2 ist signifikant niedriger als die der beiden anderen Gruppen, die sich in diesem Testsystem nicht signifikant unterscheiden.

(Counts/min)

100 000

50 000

 $p < 0,05$ $-p < 0,005$ $p < 0,0005$

GRUPPE 1

GRUPPE 2

GRUPPE 3

ABBILDUNG 31: Lymphozytenreaktivität auf Pokeweed Mitogen - Kontrollcluster: Die Lymphozytenreaktivität aller 3 Gruppen ist signifikant different, die der Gruppe 2 am niedrigsten, die der Gruppe 3 am höchsten.

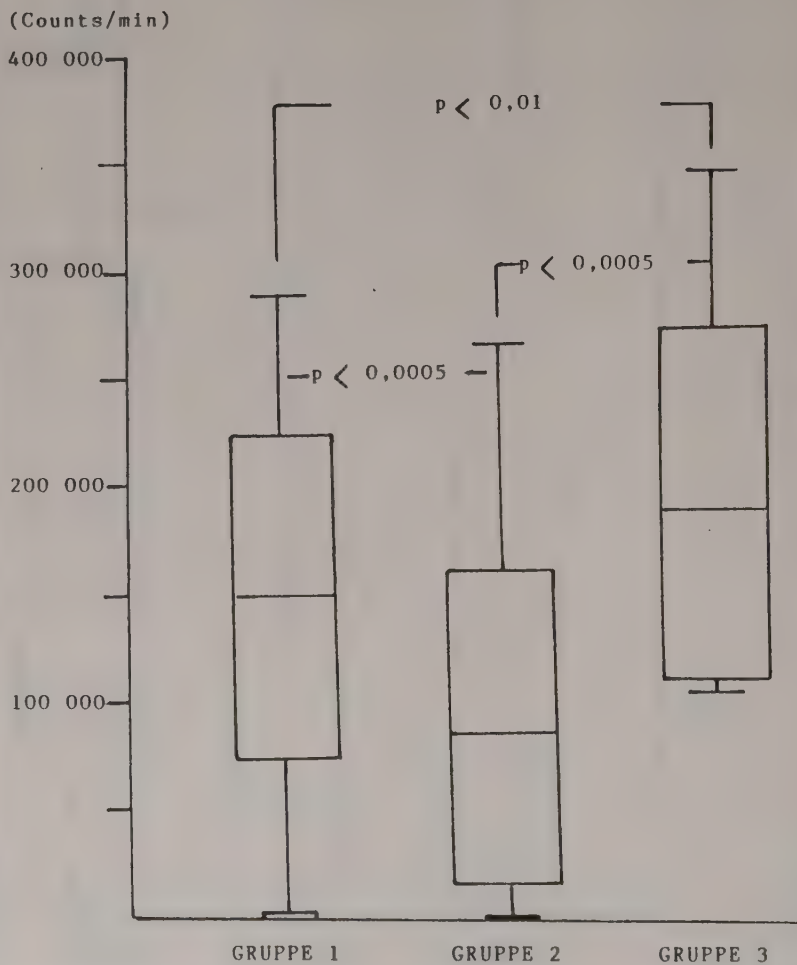


ABBILDUNG 32: Lymphozytenreaktivität auf Phytohämagglutinin - Kontrollcluster: Die Lymphozytenreaktivität aller 3 Gruppen ist signifikant different, die der Gruppe 2 am niedrigsten, die der Gruppe 3 am höchsten.

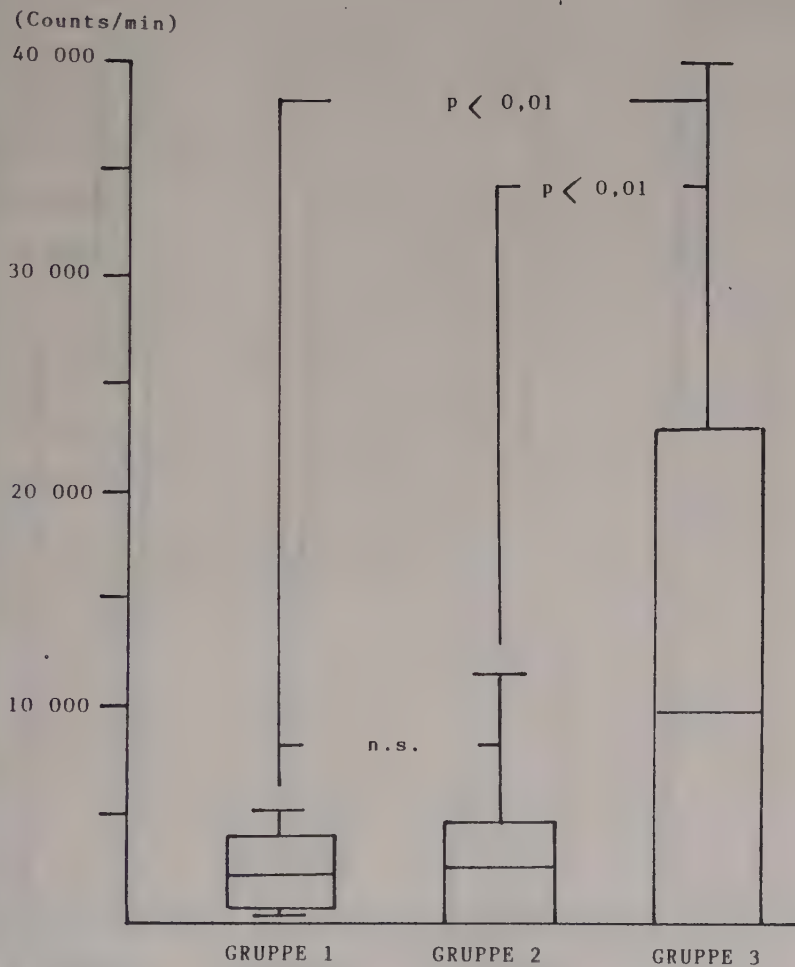


ABBILDUNG 33: Lymphozytenreaktivität auf Varidase - Kontrollcluster: Die Lymphozytenreaktivität der Gruppe 3 ist signifikant höher als die der beiden anderen Gruppen, deren Reaktivität sich nicht signifikant voneinander unterscheidet.

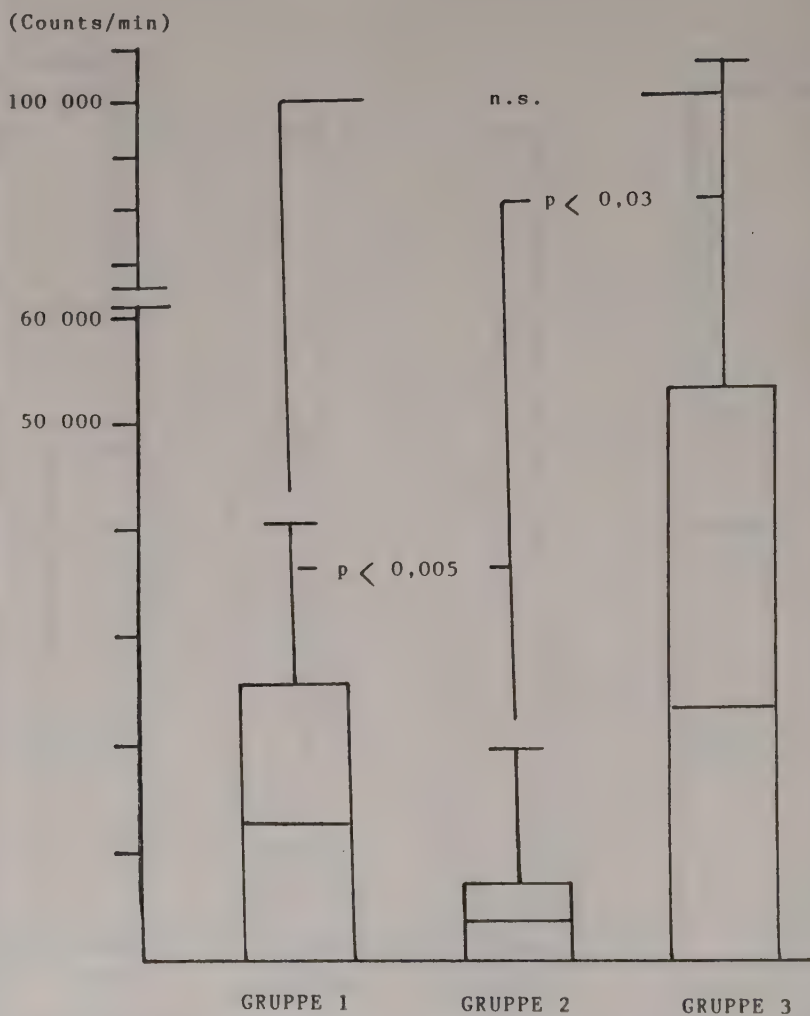


ABBILDUNG 34: Lymphozytenreaktivität auf Tetanustoxoid. - Kontrollcluster: Die Lymphozytenreaktivität der Gruppe 2 ist signifikant niedriger als die der beiden anderen Gruppen, die sich in diesem System nicht signifikant unterscheiden.

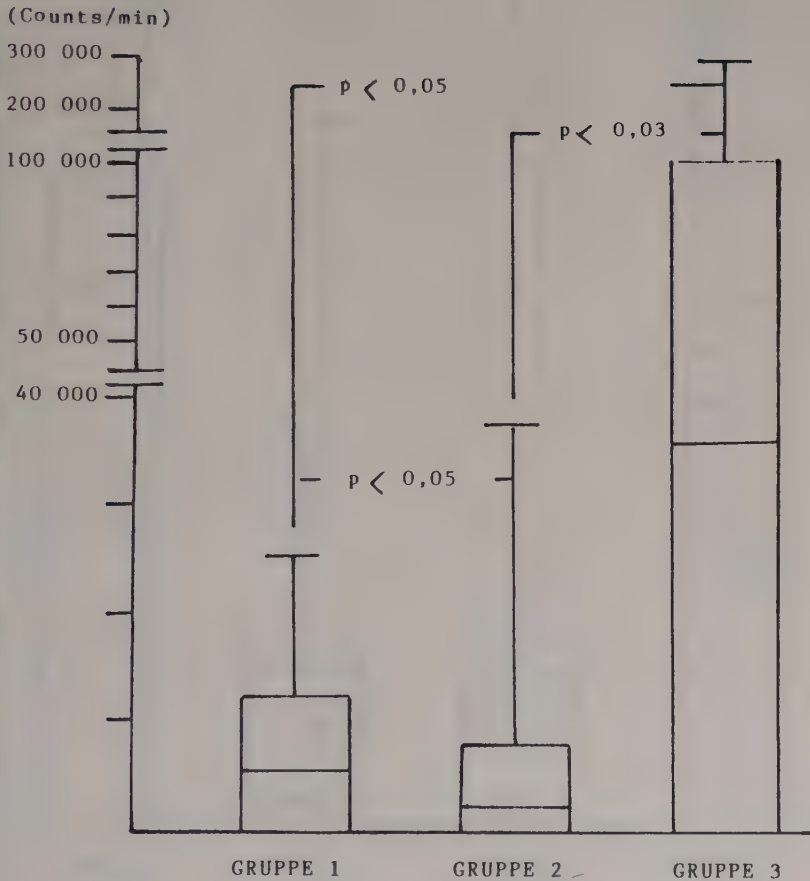


ABBILDUNG 35: Lymphozytenreaktivität auf Diphtherietoxoid - Kontrollcluster: Die Lymphozytenreaktivität der drei Gruppen ist statistisch signifikant different, wobei die der Gruppe 2 am niedrigsten, die der Gruppe 3 am höchsten ist.

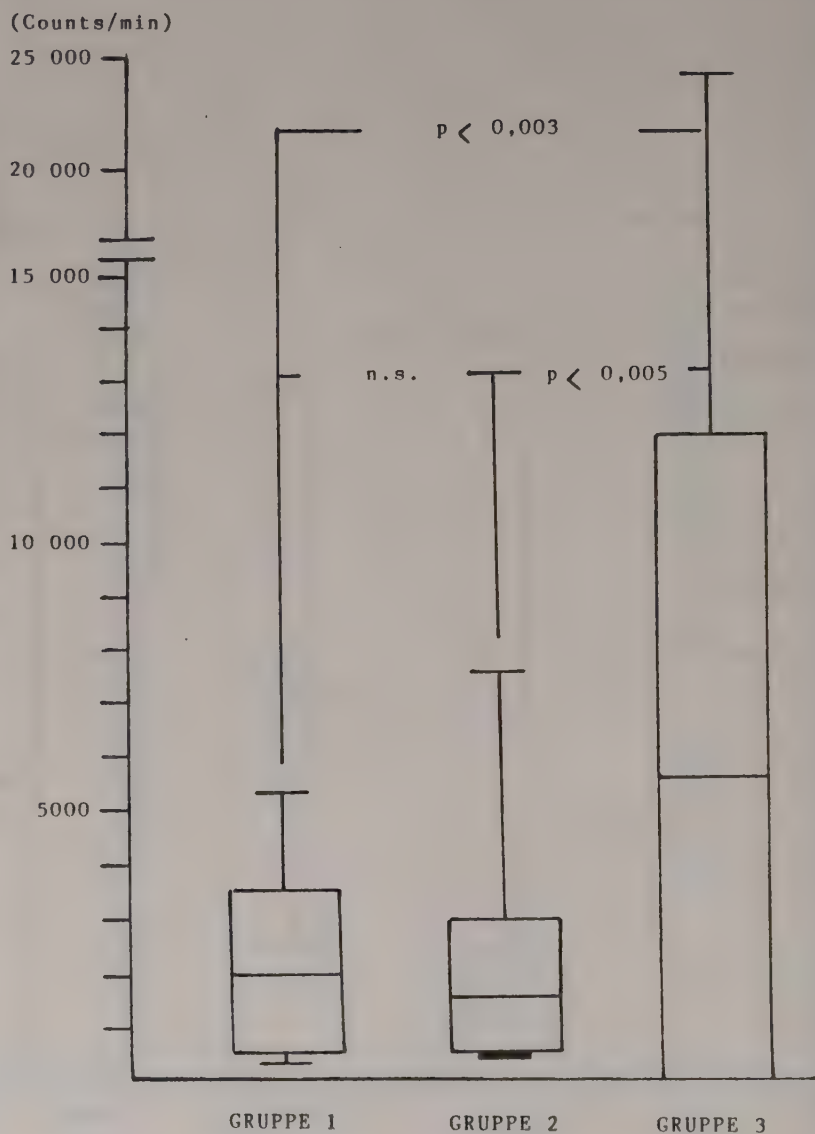


ABBILDUNG 36: Lymphozytenreaktivität auf Tuberkulin GT 1 - Kontrollcluster: Die Lymphozytenreaktivität der Gruppe 3 ist signifikant höher als die der beiden anderen Gruppen, deren Reaktivität sich in diesem Testsystem nicht signifikant unterscheidet.

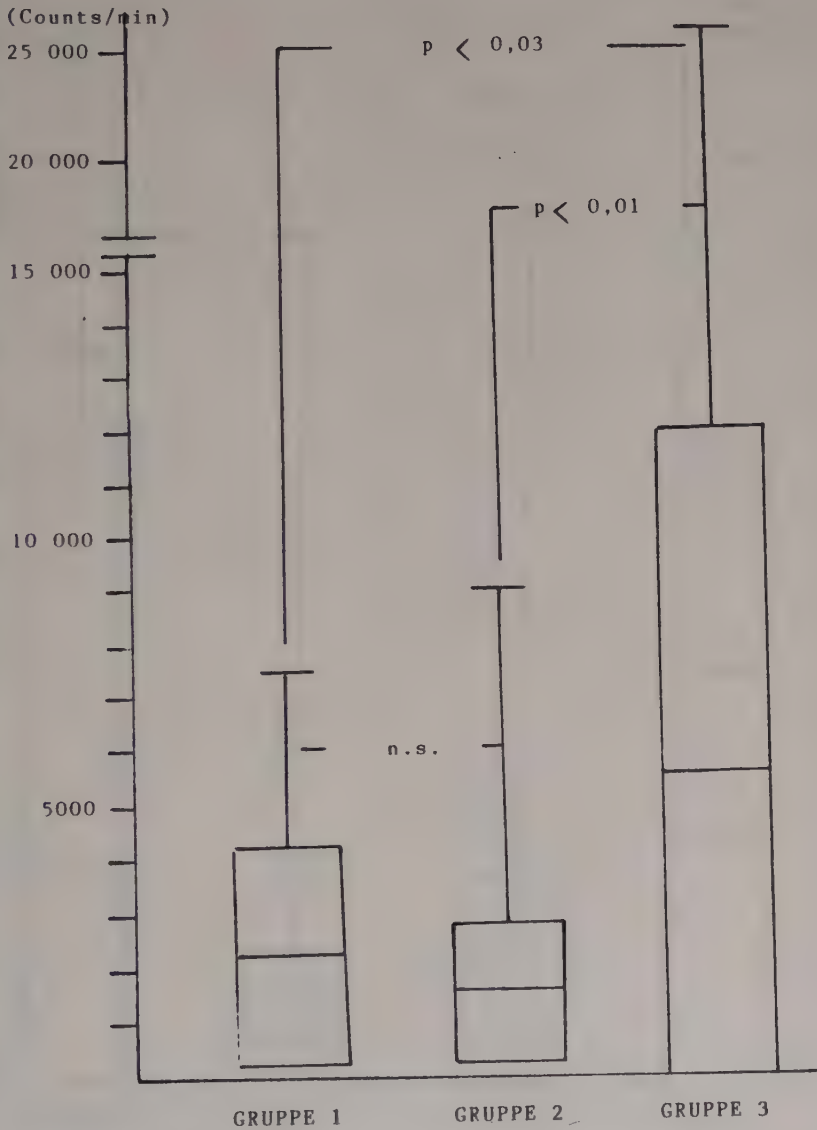


ABBILDUNG 37: Lymphozytenreaktivität auf Tuberkulin GT 10 - Kontrollcluster: Die Lymphozytenreaktivität der Gruppe 3 ist signifikant höher als die der beiden anderen Gruppen, deren Reaktivität sich in diesem Testsystem nicht signifikant unterscheidet.

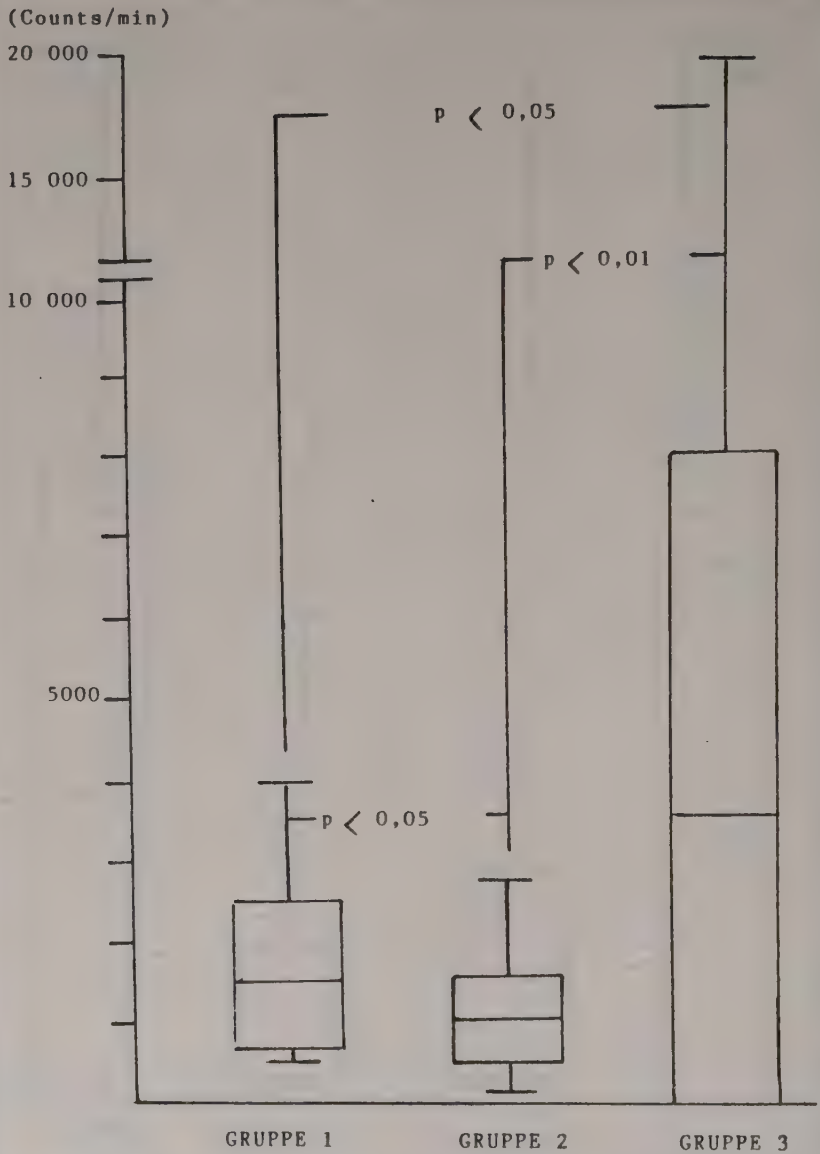


ABBILDUNG 38: Lymphozytenreaktivität auf Masernantigen - Kontrollcluster: Die Lymphozytenreaktivität der drei Gruppen ist signifikant different, wobei die Gruppe 2 am niedrigsten, die Gruppe 3 am höchsten reagiert.

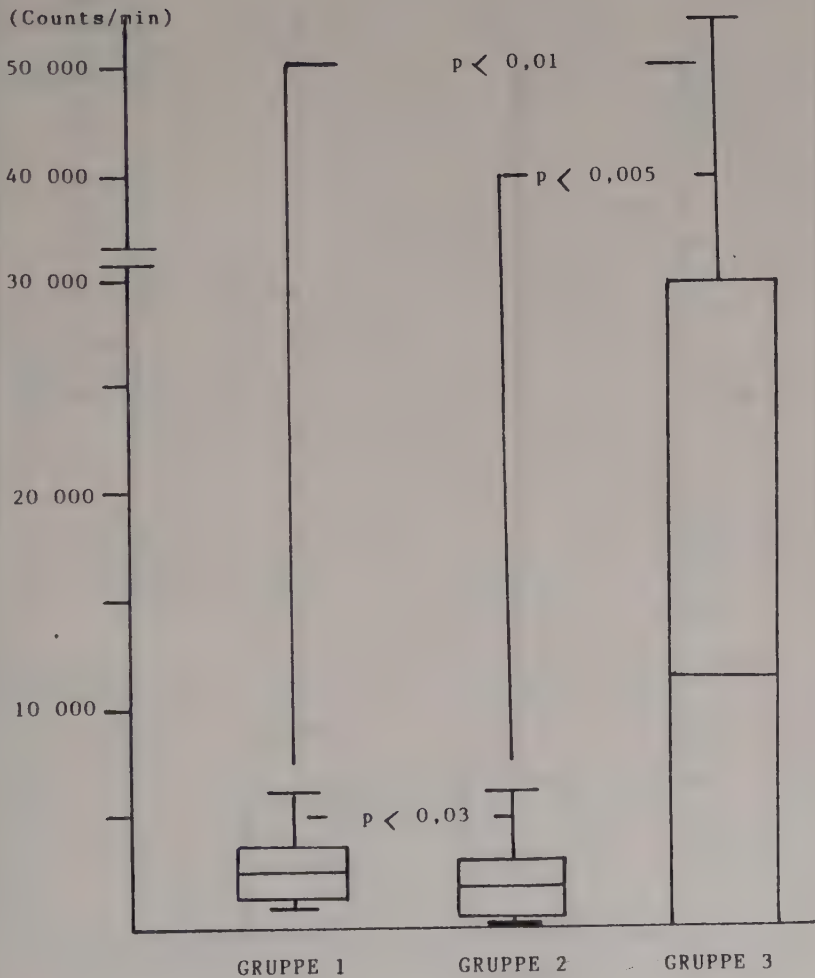


ABBILDUNG 39: Lymphozytenreaktivität auf Vacciniaantigen - Kontrollcluster: Die Lymphozytenreaktivität der drei Gruppen ist signifikant different, wobei die Gruppe 2 am niedrigsten, die Gruppe 3 am höchsten reagiert.

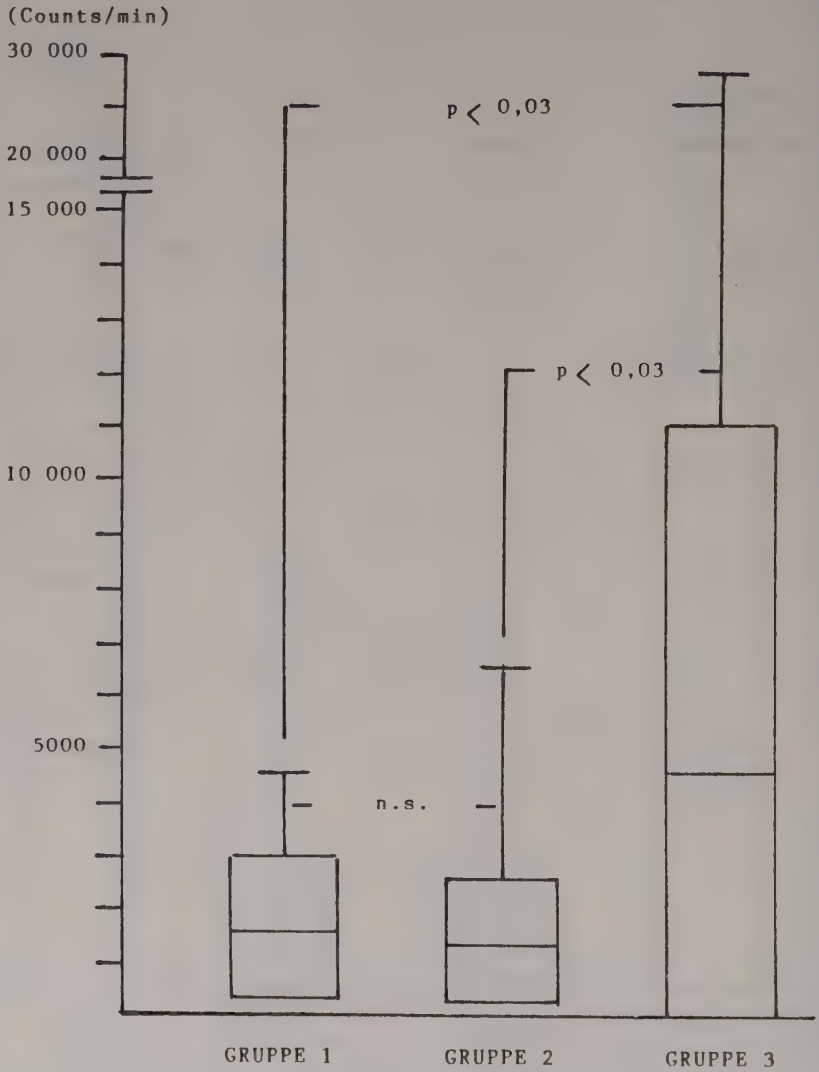


ABBILDUNG 40: Lymphozytenreaktivität auf Rötelnantigen.- Kontrollcluster: Die Lymphozytenreaktivität der Gruppe 3 ist signifikant höher als die der beiden anderen Gruppen, die sich in diesem System nicht signifikant unterscheiden.

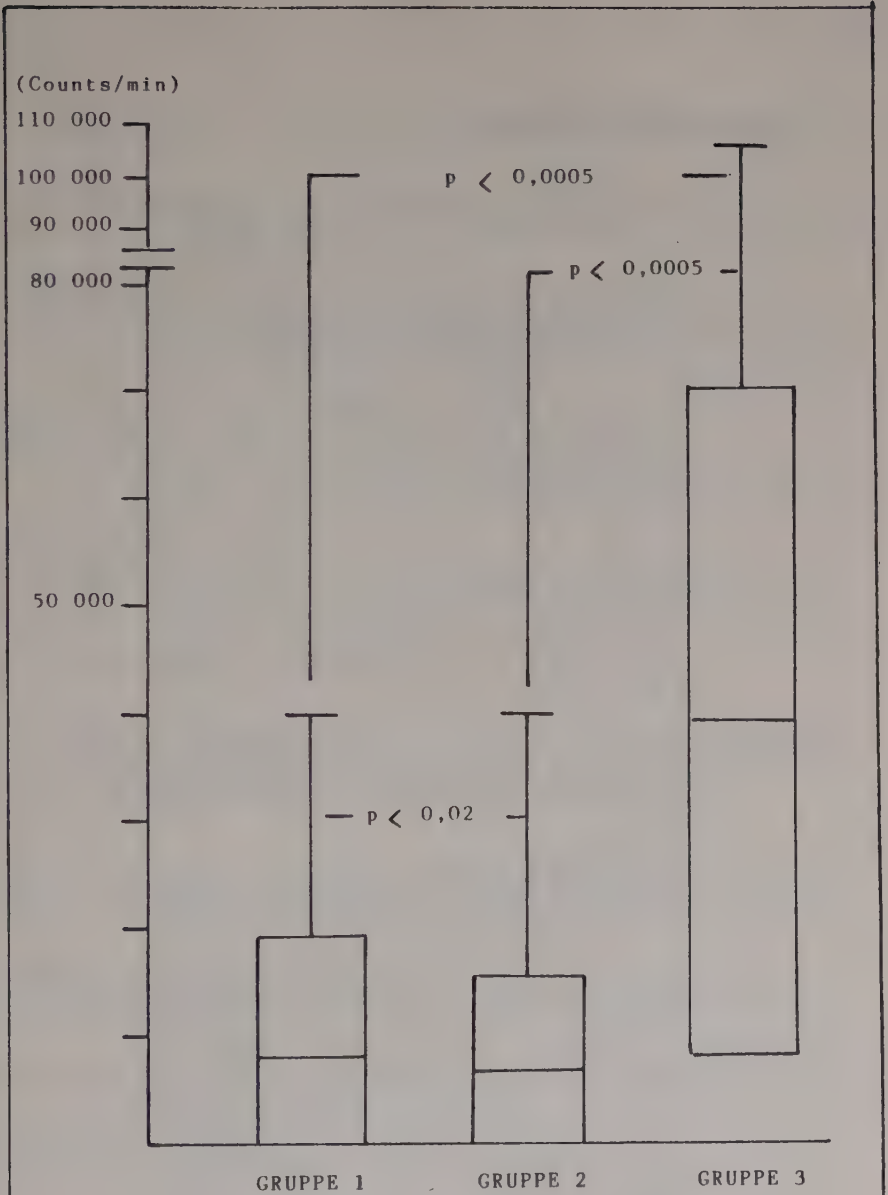


ABBILDUNG 41: Lymphozytenreaktivität gegen den Antigencocktail-Kontrollcluster: Die Lymphozytenreaktivität der drei Gruppen ist signifikant different, wobei die Gruppe 2 am niedrigsten, die Gruppe 3 am höchsten reagiert.

10. LITERATURVERZEICHNIS

1. Alper CA, Rosen FS: Genetics of the complement system. Adv. Human. Genet. 7, 141 - 188 (1976)
2. Amos DB, Yunis EJ: A new interpretation of the major histocompatibility gene complexes of man and mouse. Cell. Immunol. 2, 515 - 520 (1972)
3. Andersson J, Möller G, Sjöberg O: B-lymphocytes can be stimulated by concanavalin A in the presence of humoral factors released by T-cells. Eur. J. Immunol. 2, 99 - 101 (1972)
4. Aster RH, Keene WR: Sites of platelet destruction in idiopathic thrombocytopenic purpura. Br. J. Haematol. 16, 61 - 73 (1969)
5. Bach FH, Amos DB: Hu-I: Major histocompatibility locus in man. Science 156, 1506 - 1508 (1967)
6. Bach JF, Dardenne M: Studies on thymus products. II Demonstration and characterization of a circulating thymic hormone. Immunology 25, 353 - 366 (1973)
7. Bach MA, Bach JF: The use of monoclonal anti-T-cell antibodies to study T cell imbalances in human diseases. Clin. Exp. Immunol. 45, 449 - 456 (1981)
8. Begemann H, Rastetter J, Kaboth W: Klinische Hämatologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1986)
9. Begemann M: Das HLA -System des Menschen. Med. Klinik 77, 436 - 445 (1982)
10. Benacerraf B: Role of MHC gene products in immune regulation. Science 212, 1229 - 1238 (1981)
11. Bender K: Immunglobuline: I Genetik der Antikörperbildung. In: Handbuch der Humangenetik (Becker PE ed.). Band I/3, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 223 - 243 (1975)

12. Bender K: Das HLA-System. Biotest, Frankfurt (1983)
13. Brandis H, Otte HJ: Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie, 5 Auflage 1984, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart - New York.
14. Brennink JR, Doherty PC: The response to H-2-different virusinfected cells is mediated by long-lived T lymphocytes and is diminished by prior virus priming in a syngeneic environment. Cell. Immunol. 61, 220 - 224 (1981)
15. Bergholz BO, Thorsby E: Macrophage-dependent response of immune human T lymphocytes to PPD in vitro. Scand. J. Immunol. 6, 779 - 786 (1977)
16. Bernhard W, Gramboulan N: Ultrastructure of immunologically competent cells. In: Cellular Aspects of Immunity. Ciba Foundation Symposium, Churchill, London, 92 - 121 (1960)
17. Branehog I, Kutti J, Ridell B, Swolin B, Weinfeld A: The relation of thrombokinetis to bone marrow megakaryocytes in idiopathic thrombocytopenic purpura. Blood 45, 551 - 562 (1975)
18. Bresnihan B, Jasin HE: Suppressor function of peripheral blood mononuclear cells in normal individuals and in patients with systemic lupus erythematosus. J. Clin. Invest. 59, 106 - 116 (1977)
19. Brittinger G., König E, Cohnen G, Aberle HG: Lysosomale Enzyme in Lymphozyten. I Lymphoretikuläre Erkrankungen: Vergleich des Enzymgehalts (saure Phosphatase, Beta-Glucuronidase) unstimulierter Blutlymphozyten mit der Blastentransformation nach Phytohämagglutinin-Stimulierung in vitro. Acta Haemat. 44, 205 - 251 (1970)
20. Brittinger G, König E, Aberle HG, Zimmerschitt E: Lysosomale Enzyme in Blutlymphozyten von Gesunden und Patienten mit chronischer Lymphadenose bei kurz-dauernder unspezifischer Stimulation in vitro. Schweiz. med. Wochenschr. 100, 341 - 344 (1970)

21. Brittinger G: Die Lymphozytenkultur als in vitro Modell immunologischer Vorgänge. In: Der Lymphozyt (Pietschmann H ed.). Verlag der Wiener Medizinischen Akademie, Wien, 297 - 316 (1972)
22. Broff MD, Jonsen ME, Geha RS: Nature of the immunogenic moiety recognized by human T cell proliferating in response to tetanus toxoid antigen. Eur. J. Immunol. 11, 365 - 371 (1981)
23. Brown RS, Haynes HA, Foley HT, Godwin HA, Berard CW, Carbone PP: Hodgkin's disease. Immunologic, clinical and histologic features of 50 untreated patients. Ann. Intern. Med. 67, 291 - 302 (1967)
24. Bundschuh G, Schneeweiß B: Immunologie. Akademie Verlag, Berlin (1976)
25. Burns TR, Saleem A: Idiopathic thrombocytopenic purpura. Am J. Med. 75, 1001 - 1007 (1983)
26. Cantor H, Asofsky R: Synergy among lymphoid cells mediating the graft-versus-host response. II Synergy in graft-versus-host reactions produced by BALB/C lymphoid cells of differing anatomic origin. J. exp. Med. 131, 235 - 246 (1970)
27. Cantor H, Boyse EA: Functional subclasses of T-lymphocytes bearing different Ly antigens. I The generation of functionally distinct T-cell subclasses is a differentiative process independent of antigen. J. exp. Med. 141, 1376 - 1389 (1975)
28. Cantor H, Simpson E: Regulation of the immune response by subclasses of T lymphocytes. I Interaction between pre-killer T cells and regulatory T cells obtained from peripheral lymphoid tissues of mice. Eur. J. Immunol. 5, 330 - 336 (1975)
29. Cohen N, Collins NH: Major and minor histocompatibility systems of ectothermic vertebrates. In: The major histocompatibility system in man and animals (Götze D ed.). Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 313 - 337 (1977)

30. Cohen P, Gardener RH, Barnett GO: Reclassification of the thrombocytopenias by the Cr51-labeling method for measuring platelet life span. *New Engl. J. Med.* 264, 1294 - 1299 (1961)
31. Cooper MD, Peterson RDA, South MA, Good RA: The function of the thymus system and the bursa system in the chicken. *J. exp. Med.* 123, 75 - 109 (1966)
32. Corrigan V: Lymphocyte studies in rheumatoid arthritis. III A comparative study of the responses of peripheral blood and synovial fluid lymphocytes to phytomitogens. *Scand. J. Rheumatol.* 8, 10 - 16 (1979)
33. Dausset J: Leuco-agglutinins. IV Leuco-agglutinins and blood transfusion. *Vox Sang.* 4, 190 - 198 (1954)
34. Dausset J: Iso-leuco-anticorps. *Acta haemat.* 20, 156 - 166 (1958)
35. Dausset J, Hamberger J, Mathe G: Advances in transplantation. *Munksgaard, Copenhagen*, (1966)
36. Dausset J. The major histocompatibility complex in man. Past, present and future concepts. *Science* 213, 1469 - 1474 (1981)
37. David JR: Lymphocyte mediators and cellular hypersensitivity. *New Engl. J. Med.* 288, 143 - 149 (1973)
38. Davies AJS, Leuchars E, Wallis V, Koller PC: The mitotic response of thymus derived cells to antigenic stimulus. *Transplantation* 4, 438 - 451 (1966)
39. Day NK, Good RA: Biological amplification systems in immunology. *Plenum Press, New York* (1977)
40. De Vita VT jr: Lymphocyte reactivity in Hodgkin's disease. A lymphocyte civil war. *New Engl. J. Med.* 289, 801 - 802 (1973)

41. De Vries RRP, Kreeftenberg HG, Loggen HG, Rood JJ van:
In vitro immune responsiveness to vaccinia virus and
HLA. *New Engl. J. Med.* 297, 692 - 696 (1977)
42. Dickmeis E, Soeberg B, Svjegaard A: Human cell-media-
ted cytotoxicity against modified target cells is
restricted by HLA. *Nature* 270, 526 - 528 (1977)
43. Doan CA, Bouroncle BA, Wisemann BK: Idiopathic and
secondary thrombocytopenic purpura: Clinical study
and evaluation of 381 cases over a period of 28
years. *Ann. Intern. Med.* 53, 861 - 876 (1960)
44. Dorr Burns F, Marrack PC, Kappler JW, Janeway CA:
Functional heterogeneity among T-derived lymphocytes
of the mouse. IV Nature of spontaneously induced
suppressor cells. *J. Immunol.* 114, 1345 - 1347 (1975)
45. Dubos RJ, Dubos JP: The white plaque; tuberculosis,
man and society. Little, Brown, Boston (1952)
46. Dumonde DC, Wolstencroft RA, Panay GS, Matthew M,
Morley J, Howson WT: "Lymphokines": Non-antibody
mediators of cellular immunity generated by lym-
phocyte activation. *Nature* 224, 38 - 42 (1969)
47. Dutton RW: Inhibitory and stimulatory effects of
concanavalin A on the response of mouse spleen cell
suspensions to antigen. *J. exp. Med.* 136, 1445 -
1460 (1972)
48. Eckstein R: Die zelluläre Immunität bei chronischer
lymphatischer Leukämie und Lymphogranulomatose im
Vergleich zu Normalpersonen-eine lymphozytenkineti-
sche Untersuchung. Inauguraldissertation, München
(1978)
49. Eckstein R, Mempel W, Bolte HD: Suppressorzell-
aktivität bei Viruskarditis und Kongestiver Kardi-
omyopathie. *Z. Kardiologie*. 70, 287 (1981)
50. Eckstein R, Mempel W, Bolte HD: Die Bedeutung niedri-
ger Suppressorzellaktivität für die Pathogenese von
Myokarditis und Kongestiver Kardiomyopathie. *Z.*
Kardiologie. 70, 628 (1981)

51. Eckstein R, Mempel W, Bolte HD: Reduced suppressor cell activity in congestive cardiomyopathy and in myokarditis. *Circulation* 65, 1224 - 1229 (1982)

52. Eckstein R, Mempel W, Heim MU, Bolte HD: Beziehungen zwischen HLA-Genen und niedriger Suppressorzellaktivität bei Patienten mit Myokarditis und Kongestiver Kardiomyopathie. In: Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und Immunhämatologie (Nagel V, Stangel W eds.). Band 8, Medicus Verlag, Berlin, 559 - 566 (1983)

53. Eckstein R, Mempel W, Heim MU, Bolte HD: The role of human leukocyte antigen genes and low suppressor cell activity in the pathogenesis of myokarditis and dilated cardiomyopathy. In: *Viral Heart Disease* (Bolte HD, ed.). Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 150 - 161 (1984)

54. Eckstein R, Bolte HD, Heim MU, Lehmeier A, Wilmanns W, Mempel W: Untersuchungen von T-Zellsubfraktionen bei Myokarditis und dilatativer Kardiomyopathie. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin*. Band 90, J. F. Bergmann Verlag, München, 1547 - 1550 (1984)

55. Eckstein R, Heim MU, Huhn D, Schneider B, Müller R, Peltz F, Mempel W: Clusters of healthy persons with different immune function and their relationship to genes of the major histocompatibility complex. Abstractbook "18th Congress of the International Society of Blood Transfusion", S. Karger Verlag, Basel, 155 (1984)

56. Eckstein R, Huhn D, Schneider B, Lehmeier A, Heim MU, Mempel W: Lymphozytenfunktionsstörungen bei der Histiozytose-X. In: *Thymostimulin: Möglichkeiten bei der Behandlung sekundärer Immundefizienzen* (Löhr G, Musil J eds.). Editio Cantor, Aulendorf, 78 - 87 (1984)

57. Eckstein R, Heim MU, Gresser U, Garhammer M, Knarr W, Schattenkirchner M, Mempel W: Immunfunktion und Therapieerfolg mit Gold und Resochin bei Patienten mit chronischer Polyarthrititis. *Z. Rheumatol.* 43, 217 (1984)

58. Eckstein R, Heim MU, Riestler M, Mempel W, Schattenkirchner M: Definierte Begleitsymptome bei chronischer Polyarthritis in Abhängigkeit von Immunfunktion und Immungenetik. *Z. Rheumatol.* 43, 232 (1984)
59. Eckstein R, Huhn D, Schneider B, Heim MU, Peltz F, Müller R, Edlmann M, Löhr G, Mempel W: Beeinflussung immunfunktioneller Parameter bei Histiozytose-X durch Thymostimulin. *Arzneim. Forsch.* 35, 155 - 162 (1980)
60. Eichmann K: Idiotype suppression. II Amplification of a suppressor T cell with anti-idiotypic activity *Eur. J. Immunol.* 5, 511 - 517 (1975)
61. Ellner JJ, Schacter BZ, Bhe FT: Tuberculin response of lymphocytes from human skin test non reactors; evidence for in vitro primary sensitization of T lymphocytes. *Cell. Immunol.* 45, 213 - 220 (1979)
62. Elves MW, Gough J, Chapman JA, Israels MCP: Electron microscopy studies of lymphocytes. *Lancet* I, 306 - 308 (1964)
63. Elves MW: The lymphocytes. Lloyd Luke, London (1966)
64. Fellous M, Dausset J: Probable haploid expression of HL-A antigens on human spermatozoon. *Nature* 225, 191 - 193 (1970)
65. Fink U: Die Rosettenformationen - ein Marker thymusabhängiger Lymphozyten beim Menschen. Habilitationsschrift, München (1975)
66. Folch H, Waksman BH: Regulation of lymphocyte responses in vitro. V Suppressor activity of adherent and nonadherent rat lymphoid cells. *Cell. Immunol.* 9, 12 - 24 (1973)
67. Forsgren A, Sjöquist J: "Protein A" from *S. aureus*. I Pseudoimmune reaction with human gammaglobulin. *J. Immunol.* 97, 822 - 827 (1966)
68. Forsgren A, Svedjelund A, Wigzell H: Lymphocyte stimulation by Protein A of staphylococcus aureus. *Eur. J. Immunol.* 6, 207 - 213 (1976)

69. Francke U, Pellegrino MA: Assignment of the major histocompatibility complex to a region of the short arm of human chromosome 6. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 74, 1147 - 1151 (1977)
70. Fu SM, Winchester RJ, Kunkel HG: Occurrence of surface IgM, IgD, and free light chains of human lymphocytes. *J. exp. Med.* 139, 451 - 456 (1974)
71. Fudenberg HH: Genetically determined immune deficiency as the predisposing cause of "autoimmunity" and lymphoid neoplasia. *Am. J. Med.* 51, 295 - 298 (1971)
72. Fudenberg HH, Stites DP, Caldwell JL, Wells JV (eds.): *Basic and clinical immunology*. Lange Medical Publications, Los Altos, California (1978)
73. Garg SK, Amorosi EL, Karpatskin S: Use of the megathrombocyte as an index of megakaryocyte number. *New Engl. J. Med.* 284, 11 - 17 (1971)
74. Geha RS, Rosen FS, Merler E: Unresponsiveness of human B lymphocytes to phytohaemagglutinin. *Nature* 248, 426 - 428 (1974)
75. Geraldine A: *Effects of interferon on cells, viruses and the immune system*. Academic Press, New York (1975)
76. Gershon RK, Kondo K: Cell interactions in the induction of tolerance: The role of thymic lymphocytes. *Immunol.* 18, 723 - 738 (1970)
77. Gershon RK, Gery J, Waksman BH: Suppressive effects of in vivo immunization on PHA responses in vitro. *J. Immunol.* 112, 215 - 221 (1974)
78. Glick B, Chang TG, Jaap RG: The bursa of Fabricius and antibody production. *Poultry Sci.* 35, 224 - 225 (1956)
79. Goebel KM, Hahn E, Havemann K: HLA matching in ITP. *Br. J. of Haematol.* 35, 341 - 342 (1977)

80. Goudie RB, Macfarlane BS, Lindsay MK: Homing of lymphocytes to nonlymphoid tissues. *Lancet* 1, 292 - 293 (1974)
81. Gowen JW: Genetic effects in non-specific resistance to infectious disease. *Bacteriol. Rev* 24, 192 - 200 (1960)
82. Gratama JW, D'Amato J, De Koning J, Den Ottolander GJ: The HLA-System in ITP: its relation to the outcome of therapy. *Br. J. of Haematol.* 56, 287 - 293 (1984)
83. Graziano KD, Ruckdeschel JC, Mardinery MR jr: Cell-associated immunity to measles (rubeola). The demonstration of in vitro lymphocyte tritiated thymidine incorporation in response to measles complement fixation antigen. *Cell. Immunol.* 15, 347 - 359 (1975)
84. Greaves MF, Hogg NM: Immunoglobulin determinants on the surface of antigen binding T and B lymphocytes in mice. In: *Progress in Immunology* (Amos B ed.). Academic Press, New York, 111 - 126 (1971)
85. Greaves MF, Owen JJT, Raff MC: T and B lymphocytes. *Excerpta Medica*, Amsterdam (1973)
86. Greaves MF, Janossy G, Doenhoff M: Activation of human T and B lymphocytes by polyclonal mitogens. *Nature* 248, 698 - 701 (1974)
87. Greenberg AH, Hudson L, Shen L, Roitt IM: The identity of cytotoxic cells. *Nature* 242, 111 - 113 (1973)
88. Greenberg LJ, Gray ED, Yunis EJ: Association of HL-A5 and immune responsiveness in vitro to streptococcal antigens. *J. exp. Med.* 141, 935 - 943 (1975)
89. Halim K, Wong DM, Mittal KK: The HLA typing of human spermatozoa by two color fluorescence. *Tissue Antigens* 19, 90 - 91 (1982)

90. Hapel AJ, Bablanian R, Cole GA: Inductive requirements for the generation of virus-specific T lymphocytes. I The nature of the host cell-virus interaction that triggers secondary poxvirus-specific cytotoxic T lymphocyte induction. *J. Immunol.* 121, 736 - 743 (1978)
91. Hardin JA, Chused TM, Steinberg AD: Suppressor cells in the graft vs host reaction. *J. Immunol.* 111, 650 - 651 (1973)
92. Harker LA: Thrombokinetics in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br. J. Haematol.* 19, 95 - 104 (1970)
93. Harrington WJ, Sprague CC, Minnich V, Moore CV, Aulvin RC, Dubach R: Immunologic mechanisms in idiopathic and neonatal thrombocytopenic purpura. *Ann. Int. Med.* 38, 433 - 469 (1953)
94. Havemann K, Rubin AD: The delayed response of chronic lymphocytic leukemia lymphocytes to phytohaemagglutinin in vitro. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 127, 668 - 671 (1968)
95. Havemann K, Schmidt M: Lymphozytenkulturen bei Hodgkinscher Erkrankung. Hinweise für zwei Lymphozytenpopulationen bei unterschiedlicher Reaktion auf Phytohämagglutinin. *Klin. Wochenschr.* 46, 31 - 33 (1968)
96. Herbermann RB: Lymphoid cells in immune surveillance against malignant transformation. In: *Advances in Host Defense Mechanismus* (Gallin JI, Fauci AS eds.). Volume 2, Raven Press, New York, 241 - 273 (1983)
97. Hodes RJ, Hathcock KS: In vitro generation of suppressor cell activity: Suppression of in vitro induction of cell-mediated cytotoxicity. *J. Immunol.* 116, 167 - 177 (1976)
98. Hodgson HJF, Wands JR, Isselbacher KJ: Alteration in suppressor cell activity in chronic active hepatitis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 75, 1549 - 1553 (1978)
99. Hood L, Prahl JW: The immune system: a model for differentiation in higher organisms. *Adv. Immunol.* 14, 291 - 351 (1971)

100. Huber Ch, Michlmayr G, Falkensammer M, Fink U, zur Nedden G, Braunsteiner H, Huber H: Increased proliferation of T-lymphocytes in the blood of patients with Hodgkin's disease. Clin. exp. Immunol. 21, 47 - 53 (1975)
101. Huber H, Pathouli Ch, Michlmayr G: Immunopathologie lymphatischer Systemerkrankungen. In: Lymphozyt und klinische Immunologie (Theml H, Begemann H eds.). Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 96 - 111 (1975)
102. Humphrey JH, White RG: Immunology for students of medicine. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1970)
103. Hungerford DA, Donnelly AJ, Nowell PC, Beck S: The chromosome constitution of a human phenotypic intersex. Am. J. Human Genetics 11, 215 - 236 (1959)
104. Ivani K, Murgatroyd LB, Lydgard PM: Bursal origin of bone marrow cells with competence for antibody formation. Immunology 23, 107 - 111 (1972)
105. Jensen K: Investigations of staphylococcal antigen structure, with special reference to a polysaccharide antigen and normally-present antibodies against this antigen. Thesis, Munksgaard, Copenhagen (1959)
106. Johannsen R: HLA-System. Behring Diagnostika, 1982.
107. Jones KD: Lymphocyte response to PHA and patient response to chemotherapy in breast cancer. Clin. Oncol. 6, 159 - 166 (1980)
108. Karpatkin S, Garg SK, Siskind GW: Autoimmune thrombocytopenic purpura and the compensated thrombocytolytic state. Am. J. Med. 51, 1 - 4 (1971)
109. Karpatkin S, Fotino M, Gibofsky A, Winchester RJ: Association of HLA-DRw2 with ITP, J. of Clin. Invest. 63, 1085 - 1088 (1979)

110. Karpatkin S: Autoimmune thrombocytopenic purpura. *Blood* 56, 329 - 343 (1980)
111. Kato S, Muranska S, Takakura I, Kimura M, Tsuji K: HLA-Dr antigens and the rubella-specific immune response in man. *Tissue Antigens* 19, 140 - 145 (1982)
112. Keller R: Immunologie und Immunpathologie. Georg Thieme Verlag Stuttgart (1981)
113. Kelton JG, Neame PB: Elevated platelet associated IgG in thrombocytopenia of septicemia. *New Engl. J. Med.* 300, 760 - 764 (1971)
114. Kincade PW, Self KS, Cooper MD: Survival and function of bursaderived cells in bursectomized chickens. *Cell. Immunol.* 8, 93 - 102 (1973)
115. Kissmeyer-Nielsen F, Kjerbye E: Lymphocytotoxic microtechnique. Purification of lymphocytes by flotation. *Histocompatibility Testing 1967*. Munksgaard, Copenhagen, 381 - 383 (1967)
116. Kissmeyer-Nielsen F, Svejgaard A, Freiesleben-Sørensen S, Staub-Nielsen L, Thorsby E: Mixed lymphocyte cultures and HL-A identity in unrelated subjects. *Nature* 228, 63 - 65 (1970)
117. Klein J: Evolution and function of the major histocompatibility system: facts and speculations. In: *The Major Histocompatibility System in Man and Animals* (Götze D ed.). Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 339 - 378 (1977)
118. Koszinowski U, Ertl H: Lysis mediated by T cells and restricted by H-2 antigen of target cells infected with vaccinia virus. *Nature* 255, 552 - 554 (1975)
119. Kratzin H, Yang C, Götz H, Pauly E, Kölbel S, Egert G, Thinnies FP, Wernet P, Altevoigt P, Hilschmann N: Primärstruktur menschlicher Histokompatibilitätsantigene der Klasse II: 1. Mitteilung: Aminosäuresequenz der N-terminalen 198 Reste der Beta-Kette des HLA-Dw2,2;Dr2,2-Alloantigens. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 362, 1665 - 1669 (1981)

120. Kung BC, Goldstein G, Reinherz EL, Schlossmann SF: Monoclonal antibodies defining distinctive human T cell surface antigens. *Science* 206, 347 - 349 (1979)
121. Lachmann PJ: Lymphocyte cooperation. *Proc. Roy. Soc.*, Band 176, London, 425 - 426 (1971)
122. Lamm LU, Svejgaard A, Kissmeyer-Nielsen F: PGM₃: HL-A is another linkage in man. *Nature (New Biology)* 231, 109 - 110 (1971)
123. Landsteiner K: Über Agglutinationserscheinungen normaler menschlicher Blute. *Wien. klin. Wochenschr.* 14, 1132 - 1134 (1901)
124. Lin SP, Cooper AG, Wortis HH: Scanning electron microscopy of human T cell and B cell rosettes. *New Engl. J. Med.* 289, 548 - 551 (1973)
125. Loor F, Roelants GE: B and T cells in immune recognition. John Wiley and Sons, Chichester (1977)
126. Lurie MB: Resistance to tuberculosis. Harvard University Press, Cambridge (1964)
127. Macdonald TT: Immunosuppression caused by antigen feeding. II Suppressor cells mark Peyer's patch B-cell priming to orally administered antigen. *Eur. J. Immunol.* 13, 138 - 142 (1983)
128. Majsky A, Fortynova J: HLA and ITP Tissue Antigens, 15, 222 - 223 (1980)
129. Majsky A, Korinkova P, Fortynova J, Abrahamova J, Vojtechovsky M: Some critical remarks on the problem of HLA association with disease. *Folia Haematol.* 108, 386 - 391 (1981)
130. Matchett KM, Huang AT, Kremer WB: Impaired lymphocyte transformation in Hodgkin's disease. Evidence for depletion of circulating T-lymphocytes. *J. Clin. Invest.* 52, 1908 - 1917 (1973)

131. Mayr WR, Bissbort S, Kömpf J: Confirmation of the linkage HL-A/PGM₃. *Humangenetik* 28, 173 - 174 (1975)
132. Mc Grath KM, Stuart JJ, Richards F: Correlation between serum IgG, platelet membrane IgG, and platelet function in hypergammaglobulinaemic states. *Br. J. Haematol.* 42, 585 - 591 (1979)
133. Mc Michael A, Sasazuki T, Mc Devitt HO: The immune response to diphtheria toxoid in humans. *Transplant. Proc.* 9. 191 - 194 (1977)
134. Mc Michael A, Ting A, Zweerink HJ, Asconas BA: HLA restriction of cell-mediated lysis of influenza virus infected human cells. *Nature* 270, 524 - 526 (1977)
135. Medawar PB: Immunity to homologous grafted skin. II The relationship between the antigens of blood and skin. *Brit. J. exp. Path.* 27, 15 - 24 (1946)
136. Medawar PB, Simpson E: Thymus-dependent lymphocytes. *Nature* 258, 106 - 108 (1975)
137. Mempel W, Albert E, Burger A: Further evidence for a separate MLC-locus. *Tissue Antigens* 2, 250 - 254 (1972)
138. Mempel W, Grosse-Wilde H, Baumann P, Netzel B, Steinbauer-Rosenthal I, Scholz S, Bertrams J, Albert A: Population genetics of the MLC response: Typing for MLC determinants using homozygous and heterozygous reference cells. *Transplant. Proc.* 5, 1529 - 1538 (1973)
139. Mempel W, Grosse-Wilde H, Albert E, Thierfelder S: Atypical MLC reactions in HLA typed related and unrelated pairs. *Transplant. Proc.* 5, 401 - 408 (1973)
140. Miller C, Trunkey D: Immunobiology of sepsis. In: *Surgical Infections* (Flint LM, Fry DE eds.). Medical Examination Publ. Comp., New York, 8 - 24 (1982)

141. Mizerski J, Chartrand S, Gajlpeczalska K: Con A-induced suppressor cells in man. I Induction and characterization of suppressor cells. *Immunobiol.* 158, 270 - 281 (1981)
142. Möller G, Svehag SE: Specificity of lymphocyte-mediated cytotoxicity induced by in vitro antibody-coated target cells. *Cell. Immunol.* 4, 1 - 9 (1972)
143. Mohanty D, Quadri MI, Das KC, Sengupta S: HLA and ITP. *Br. J. of Haematol.* 42, 329 - 330 (1979)
144. Müller-Eckhardt C, Mayer W, Lechner K, Müller-Eckhardt G, Niessner H, Pralle H: HLA Antigens in ITP. *Scand. J. Haematol.* 23, 348 - 352 (1979)
145. Munro A, Bright S: Products of the major histocompatibility complex and their relationship to the immune response. *Nature* 264, 145 - 152 (1976)
146. Munro A, Waldmann H: Major histocompatibility system and immune response. *Brit. Med. Bull.* 34, 253 - 258 (1978)
147. Nelson, DS: *Macrophages and immunity.* North Holland Publ, Amsterdam (1968)
148. Nowell PC: Phytohemagglutinin: An initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer Res.* 20, 462 - 467 (1960)
149. Oie M, Ichihashi Y: Target antigen of vaccinia-infected cells recognized by virus-specific cytotoxic T lymphocytes. *Immunol.* 25, 361 - 375 (1981)
150. Osler AC: *Complement: Mechanisms and functions.* Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New York (1976)
151. Owen JJT, Ritter MA: Tissue interaction in the development of thymus lymphocytes. *J. exp. Med.* 129, 431 - 442 (1969)
152. Pappenheim A: Panoptische Universalanfärbung für Blutpräparate. *Med. Klin.* 32, 1244 (1908)

153. Parkhouse RME, Abney ER: Heterogeneity of surface immunoglobulin on murine B- lymphocytes. In: Membrane Receptors of Lymphocytes (Seligmann M, Preud'homme JL, Kourilsky FM eds.). North-Holland Publ., Amsterdam, 51 - 64 (1975)
154. Parrot DMW, De Sousa MAB: Thymus dependent and thymus independent populations: origin, migratory patterns and lifespan. Clin. exp. Immunol. 8, 663 - 684 (1971)
155. Pasquier L Du: Phylogenesis of the vertebrate immune system. In: The immune system (Melchers F, Rajewski K eds.). Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 101 - 115 (1977)
156. Payne R, Rolfs MR: Fetomaternal leukocyte incompatibility. J. Clin. Invest. 37, 1756 - 1763 (1958)
157. Peavy DL, Pierce CW: Cell- mediated immune responses in vitro. I Suppression of the generation of cytotoxic lymphocytes by concanavalin A and concanavalin A-activated spleen cells. J. exp. Med. 140, 356 - 369 (1974)
158. Pellegrino MA, Ferrone S, Safford JW jr, Hirata AA, Terasaki PI, Reisfeld RA: Stimulation of lymphocyte transformation by streptococcal type M 1 protein: relationship to HL-A antigens. J. Immunol. 109, 97 - 109 (1972)
159. Penn I: Depressed immunity and the development of cancer. Clin. exp. Immunol. 46, 459 - 474 (1981)
160. Perlmann P, Nilsson H, Leon MA: Inhibition of cytotoxicity of lymphocytes by concanavalin A in vitro. Science 168, 1112 - 1115 (1970)
161. Peter HH: The origin of human NK cells. An ontogenetic model derived from studies in patients with immunodeficiencies. Blut 46, 239 - 248 (1983)
162. Pettenkofer HJ, Maasen W, Bickerich R: Antigengemeinschaften zwischen menschlichen Blutgruppen und Enterobacteriaceen. Z. Immunforsch. 119, 415 - 429 (1960)

163. Pettenkofer HJ, Stöss B, Helmbold W, Vogel F: Alleged causes of the present day world distribution of the human ABO-blood groups. *Nature* 193, 444 - 446 (1962)
164. Piquet PF, Wassalli P: Study of the thymic-derived or -independent nature of mouse spleen cells induced to proliferate in culture by various mitogens and antigens. *Eur. J. Immunol.* 3, 477 - 483 (1973)
165. Playfair JHL, Purves EC: Separate thymus dependent and thymus independent antibody forming cell precursors. *Nature* 231, 149 - 151 (1971)
166. Polliack A, Lampen N, Clarkson BD, De Harven E, Bentwich Z, Kunkel HG: Identification of human B and T lymphocytes by scanning elektron microscopy. *J. exp. Med.* 138, 607 - 624 (1973)
167. Rabellino E, Grey HM: Immunoglobulins on the surface of lymphocytes. III Bursal origin of surface immunoglobulins on chicken lymphocytes. *J. Immunol.* 106, 1418 - 1420 (1971)
168. Raeman F, De Cock W, De Beukelaar T, De Cree J, Verhaegen H: Enumeration of T lymphocytes and T lymphocyte subsets in autoimmune disease using monoklonal antibodies. *Clin. Exp. Immunol.* 45, 475 - 479 (1981)
169. Raff MC, Cantor H: Subpopulations of thymus cells and thymusderived lymphocytes. In: *Progress in Immunology* (Amos B ed.). Academic Press, New York, 83 - 93 (1971)
170. Reinherz EL, Moretta L, Roper M, Breard JM, Mingari MC, Cooper MD, Schlossmann SF: Human T-lymphocyte subpopulations defined by Fc receptors and monoclonal antibodies. A comparison. *J. exp. Med.* 151, 969 - 974 (1978)
171. Reinherz EL, Schlossmann SF: The differentiation and function of human T-lymphocytes. *Cell* 19, 821 - 827 (1980)

172. Rich RR, Pierce CW: Biological expression of lymphocyte activation. II Generation of a population of thymus derived suppressor lymphocytes. J. exp. Med. 137, 649 - 659 (1973)
173. Rich R, Rich S: Biological expression of lymphocyte activation: IV Concanavalin A-activated suppressor cells in mouse mixed lymphocyte reactions. J. Immunol. 114, 1112 - 1115 (1975)
174. Rigas DA, Osgood EE: Purification and properties of the phytohemagglutinin of *Phaseolus vulgaris*. J. Biol. Chem. 212, 607 - 609 (1956)
175. Roelants GE: The regulatory role of macrophages in immune recognition. In: B and T cells in immune recognition (Loor F, Roelants GE eds.). John Wiley and Sons, Chichester, 103 - 125 (1978)
176. Rood JJ van, Eernisse JG, Leeuwen A van: Leucocyte antibodies in sera from pregnant women. Nature 181, 1735 - 1736 (1958)
177. Rosen FS: Complement: Ontogeny and phylogeny. Transplant. Proc. 6, 47 - 50 (1974)
178. Rowe DS, Hug K, Forni L, Pernis B: Immunoglobulin D as a lymphocyte receptor. J. exp. Med. 138, 965 - 972 (1973)
179. Rowley D: Phagocytosis. Adv. Immunol. 2, 241 - 264 (1962)
180. Rubin AD, Johnson LI, Brown SM: Lymphocyte proliferation and lymphoproliferative disorders. Progr. Exp. Tumor Res. 13, 135 - 180 (1970)
181. Ruckdeschel JC, Graziano KD, Mardiney MR jr: Additional evidence that the cell-associated immune system is the primary host defense against measles (rubeola). Cell. Immunol. 17, 11 - 18 (1975)

182. Rustad RC: Pinocytosis. *Sci. Amer.* 204, 120 - 130 (1961)
183. Salton MRJ: The properties of lysozyme and its action on microorganisms. *Bacteriol. Rev.* 21, 82 - 99 (1957)
184. Sasazuki T, Kohno Y, Iwamoto I, Tanimura M: Association between an HLA haplotype and low responsiveness to tetanus toxoid in man. *Nature* 272, 359 - 361 (1978)
185. Schellekens PTA, Vriesendorp B, Eijssvoegel VP, Leeuwen A von, Rood JJ van, Migglans V, Ceppellini R: Lymphocyte transformation in vitro. II Mixed lymphocyte culture in relation to leukocyte antigens. *Clin. exp. Immunol.* 6, 241 - 254 (1970)
186. Schellekens PTA, Eijssvoegel VP: Lymphocyte transformation in vitro. III Mechanisms of stimulation in the mixed lymphocyte culture. *Clin. exp. Immunol.* 7, 229 - 239 (1970)
187. Schlesinger M: Anti-theta-antibodies for detecting thymus dependent lymphocytes in the immune response of mice to SRBC. *Nature* 226, 1254 - 1256 (1970)
188. Schmid JR, Oechsli RJ: Mononucleosis infectiosa. Eine autoradiographische Studie der DNS- und RNS-Synthese in vitro. *Schweiz. med. Wochenschr.* 94, 1395 - 1397 (1964)
189. Schröder J, De la Chapelle A: Fetal lymphocytes in the maternal blood. *Blood* 39, 153 - 162 (1972)
190. Schröder J: Passage of leucocytes from mother to fetus. *Scand. J. Immunol.* 3, 369 - 373 (1974)
191. Schulte-Wissermann H, Gardilic S: Die Rolle des Thymus in der Entwicklung der Immunkompetenz. *Monatsschr. Kinderheilk.* 129, 378 - 390 (1981)
192. Schwick HG, Bräuer H: *Exempla immunologica*. Behringwerke Frankfurt (1980)

193. Sengar DPS, Mickey MR, Myhre BA, Chen HH, Terasaki PI: Mixed leucocyte culture response in HL-A "identical individuals". *Transfusion* 11, 251 - 257 (1971)
194. Shackelford DA, Kaufmann JF, Korman AJ, Strominger DL: HLA-DR antigens: Structure, separation of subpopulations, gene cloning and function. *Immunol. Rev.* 66, 133 - 187 (1982)
195. Shearer GM, Mehmon MI, Weinstein Y, Sela M: Regulation of antibody response by cells expressing histamine receptors. *J. exp. Med.* 136, 1302 - 1307 (1972)
196. Shou L, Schwartz SA, Good RA: Suppressor cell activity after concanavalin A treatment of lymphocytes from normal donors. *J. exp. Med.* 143, 1100 - 1110 (1976)
197. Simpson E, Cantor H: Regulation of the immune response by subclasses of T lymphocytes. II The effect of adult thymectomy upon humoral and cellular responses in mice. *Eur. J. Immunol.* 1, 337 - 343 (1975)
198. Skarnes AC, Watson DW: Antimicrobial factors of normal tissues and fluids. *Bacteriol. Rev.* 21, 273 - 294 (1957)
199. Smith KA, Chess L, Mardiney MR jr: The relationship between rubella hemagglutination inhibition antibody (HIA) and rubella induced in vitro lymphocyte tritiated thymidine incorporation. *Cell. Immunol.* 8, 321 - 327 (1973)
200. Smith RT, Miescher PA, Good RA (eds.): *Phylogeny of immunity*. Univ. of Florida Press (1966)
201. Snary D, Barnstable C, Bodmer WF, Goodfellow P, Crumpton MJ: Human Ia antigens - purification and molecular structure. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 41, 379 - 386 (1977)
202. Solbach W, Röllinghoff M, Wagner H. Die Rolle von Interleukin-2 bei der Aktivierung von zytotoxischen T-Lymphozyten. *Klin. Wochenschr.* 661, 67 - 75 (1983)

203. Sprent J: Migration and lifespan of lymphocytes. In: B and T cells in immune recognition (Loor F, Roelants GE eds.). John Wiley and sons, Chichester, 59 - 82 (1977)
204. Stobo JD, Paul WE: Functional heterogeneity of murine lymphoid cells. III Differential responsiveness of T cells to phytohemagglutinin and concanavalin A as probe for T cell subsets. J. Immunol. 110, 362 - 375 (1973)
205. Strober S: Immune function, cell surface characteristics and maturation of B cell subpopulations. Transplant. Rev. 24, 84 - 112 (1975)
206. Taussig MJ, Lachmann PJ: Studies on antigenic competition. II Abolition of antigenic competition by antibody against or tolerance to the dominant antigen: a model for antigenic competition. Immunology 22, 185 - 197 (1972)
207. Temple A, Loewi G, Davies P, Howard A: Cytotoxicity of immune guinea-pig cells. II The mechanisms of macrophage cytotoxicity. Immunology 24, 655 - 699 (1973)
208. Terasaki PI, McClelland JD: Microdroplet assay of human serum cytotoxins. Nature 204, 998 - 1000 (1964)
209. Thorbecke GJ, Benaceraff B: The reticulo-endothelial system and immunological phenomena. Progr. Allergy 6, 559 - 598 (1962)
210. Treves AJ, Tal T, Barak V, Fuks Z: Antigen presentation and regulatory functions of human monocytes in the in vitro response of lymphocytes against purified protein derivative of tuberculin (PPD). Eur. J. Immunol. 11, 487 - 492 (1981)
211. Türk W: Septische Erkrankungen bei Verkümmerng des Granulozytensystems. Wien. klin. Wochenschr. 20, 157 - 162 (1907)

212. Turk JL, Bryceson ADM: Immunological phenomena in leprosy and related diseases. *Advanc. Immunol.* 13, 209 - 266 (1971)
213. Valdimarsson H, Agnarsdottir G, Lachmann PJ: Measles virus receptor on human T-lymphocytes. *Nature* 255, 554 - 556 (1975)
214. Veenhofen WA, Kaars Sijpesteijn JA, van der Schans GS: HLA Antigens in ITP. *Acta Haematol.* 62, 153 - 158 (1979)
215. Vitetta ES, Uhr JW: IgD on murine lymphocytes: Implications for differentiation and stimulation of B lymphocytes. In: *Membrane Receptors of Lymphocytes* (Seligmann M, Preud'homme JL, Kourilsky FM eds.). North Holland Publ., Amsterdam, 27 - 37 (1975)
216. Vogel F, Chakravartti R: ABO-blood groups and smallpox in a rural population of West Bengal and Bihar (India). *Humangenetik* 3, 166 - 180 (1966)
217. Vorländer KO: *Immunologie*, 2 Auflage 1983, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
218. Waksman BH, Arnason B, Jankovic BD: Role of the thymus in immune reactions in rats. *J. exp. Med.* 116, 187 - 227 (1962)
219. Warner NL, Szenberg A, Burnet FM: The immunologic role of different lymphoid organs in the chicken. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.* 40, 373 - 388 (1962)
220. Watson J, Epstein R, Nakoinz I, Ralph P: The role of humoral factors in the initiation of in vitro primary immune responses: effects of lymphocyte mitogens. *J. Immunol.* 110, 43 - 52 (1973)
221. Webb DR: Studies on the nonspecific regulation of immunocompetent cell function. In: *Immunopharmacology and the Regulation of Leucocyte Function* (Webb DR ed.). Marcel Dekker, New York, Volume 19, 143 - 158 (1982)

222. Wedgwood RG: Properdin. In: Immunological methods (Ackroyd JF von ed.). Blackwell Scientific Publications, Oxford, 25 - 42 (1964)
223. Wernet P: Human Ia-Type alloantigens: methods of detection, aspects of chemistry and biology, markers for disease states. Transplant.Rev. 30, 271 - 298 (1976)
224. Wigzell H: Specific fractionation of immunocompetent cells. Transplant. Rev. 5, 76 - 104 (1970)
225. Williams M, Benaceraff B: Genetic control of thymus derived cell function. I In vitro DNA synthetic response of normal mouse spleen cells stimulated by the mitogens concanavalin A and phytohemagglutinin. J. exp. Med. 135, 1279 - 1292 (1972)
226. Wolstencroft RA, Mathew M, Oates C, Maini RM, Dumonde DC: Lymphocyte mitogenic factor in cell-mediated immunity. In: The Role of Lymphocytes and Macrophages in the Immunological Response (Dumonde DC ed.). Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 28 - 37 (1971)
227. Wood TA, Frenkel EP: The atypical lymphocyte. Am. J. Med. 42, 923 - 936 (1967)
228. Wood WB: Phagocytosis with particular reference to encapsulated bacteria. Bacteriol. Rev. 24, 41 - 49 (1960)
229. Yang C, Kratzin H, Götz H, Thinnies FP, Kruse T, Egert G, Pauly E, Kölbels S, Wernet P, Hilschmann N: Primärstruktur der Klasse-II-Antigene: 2. Mitteilung: Aminosäuresequenz der N-terminalen 17,9 Reste der Alpha-Kette des HLA-Dw 2,2; Dr 2,2-Alloantigens. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 363, 671 - 676 (1982)
230. Zweimann B: In vitro effects of measles virus on proliferating human lymphocytes. J. Immunol. 106, 1154 - 1158 (1971)

231. Pachmann K, Pachmann U, Penning R: Allocation of the Suppressive Activity of Normal Peripheral Blood Lymphocytes Induced by Diffusion Chamber Culture and Con A Stimulation to the G₂ Phase of the Cell Cycle. Cell Immunol. 94, 21 - 31 (1985)

11. DANKSAGUNG

Herrn Professor Dr. W. Mempel danke ich für die Überlassung des Themas und für die Möglichkeit, die Einrichtungen des Transfusionszentrums der Medizinischen Klinik III, Klinikum Großhadern zu benutzen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Reinhold Eckstein von der Medizinischen Klinik III, Klinikum Großhadern für die Unterstützung bei der Planung und Durchführung der Experimente. Durch seine stets freundliche Diskussionsbereitschaft lieferte er mir wesentliche Denkanstöße, die entscheidend zur Erstellung des Gesamtkonzepts und zum schließlichen Gelingen meiner Arbeit beigetragen haben.

Für die hervorragende mathematische Beratung bei der Analyse der Versuchsdaten danke ich Herrn Professor Dr. B. Schneider vom Institut für Biometrie der Medizinischen Hochschule Hannover.

Für die Unterstützung bei den medizinisch-technischen Untersuchungen danke ich insbesondere den Mitarbeiterinnen des Transfusionszentrums der Medizinischen Klinik III, Klinikum Großhadern Frau Angela Lehmeier, Annette Schleifer und Ingrid Otto.

Lebenslauf

- 21.4.1958 geboren in Neumarkt/Siebenbürgen als Sohn des Lehrers Julius Karl Schwella und seiner Ehefrau Piroshka geb. Szente.
- 1965 - 1969 Besuch der Volksschule in Ungheni und in Neumarkt.
- 1969 - 1973 Besuch des Gymnasiums in Neumarkt.
- 6.9.1973 Übersiedlung der Familie in die Bundesrepublik.
- 1973 - 1975 Besuch des Gymnasiums Dr. Greite in Feldafing am Starnberger See.
- 1975 - 1978 Besuch des Gymnasiums Steigerwald in Wiesentheid bei Würzburg, Abitur 1978.
- 1978 - 1985 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Physikum 1980, I.Staatsexamen 1981, II.Staatsexamen 1983, Praktisches Jahr an der Medizinischen Klinik III und der Radiologischen Klinik am Klinikum Großhadern und an der Chirurgischen Klinik am Zentralklinikum Augsburg 1983-84, III.Staatsexamen 1984, anschließend Promotionssemester und Erlangung der Approbation am 19.4.1985.
- 1985 - 1986 Ableistung des Grundwehrdienstes als Stabsarzt.

